

N^o D'ORDRE
149

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

Paulette CHAIX-AUDEMARD

*Docteur en Médecine
Chargée de Recherches*

1^{re} THÈSE. — SUR LES RELATIONS EXISTANT ENTRE RESPIRATION
ET FERMENTATION CHEZ PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1940, devant la Commission d'Examen :

MM. CARDOT, *Président*
THIBAUD, *Examineur.*
FROMAGEOT

LYON
BOSC Frères M. & L. RIOU
IMPRIMEURS-ÉDITEURS
42, Quai Gailleton, 42

1940

SUR LES RELATIONS EXISTANT ENTRE RESPIRATION
ET FERMENTATION CHEZ
PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM

N^o D'ORDRE
149

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

Paulette CHAIX-AUDEMARD

*Docteur en Médecine
Chargée de Recherches*

1^{re} THÈSE. — SUR LES RELATIONS EXISTANT ENTRE RESPIRATION
ET FERMENTATION CHEZ PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1940, devant la Commission d'Examen :

MM. CARDOT, *Président*
THIBAUD, *Examineur.*
FROMAGEOT —

LYON
BOSC Frères M. & L. RIOU
IMPRIMEURS-ÉDITEURS
42, Quai Gailleton, 42

1940

UNIVERSITÉ DE LYON - FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DOUIN, *, ✕, ☿ I., *Botanique.*

Assesseur

M. CARDOT, *, ☿ I.

Doyen honoraire

M. LONGCHAMBON, *, ✕, ☿ I., ☿.

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, C. *, ☿ I.

RIGOLLOT, *, ☿ I.

COUTURIER, *, ☿ I., ☿.

DULAC, *, ☿ I.

VANEY, *, ☿ I., ☿.

ROMAN, *, ☿ I.

Professeurs

MM. MEUNIER, O. *, ☿ I., *Chimie industrielle.*

SIRE, *, ☿ I., ☿, *Mécanique rationnelle et appliquée.*

CARDOT, *, ☿ I., *Physiologie générale.*

LOCQUIN, *, ☿ I., *Chimie générale.*

LONGCHAMBON, *, ✕, ☿ I., ☿. *Minéralogie.*

DOUIN, *, ✕, ☿ I., *Botanique.*

DÉJARDIN, *, ☿ I., *Physique générale.*

SOLLAUD, ☿ I., *Zoologie.*

THIBAUD, ☿ A., *Physique expérimentale.*

LEMARCHANDS, *, ☿ I., *Chimie minérale.*

EYRAUD, ☿ I., *Calcul différentiel et intégral.*

THORAL, ☿ A., *Géologie.*

FROMAGEOT, ☿ I., *Chimie biologique.*

AUMÉRAS, ☿ I., *Chimie physique.*

Maîtres de conférences et chargés de cours

MM. DŒUVRE, ☿ I., *Chimie organique.*

PRETTRE, *Chimie minérale.*

KÜHNER, *Botanique.*

M^{me} DUBREIL-JACOTIN, *Mathématiques.*

MM. BERNARD, *Zoologie.*

LAVAL, *Minéralogie.*

Maître de conférences adjoint

M. BONNET, *, ☿ I., *Zoologie générale et agricole.*

Chargés de cours complémentaires

M^{lle} BACHRACH, ☿ I., *Physiologie.*

MM. DUFAY, *Astronomie et Physique supérieure.*

VIRET, ☿ I., *Etude des roches.*

RANSON, *Géométrie supérieure.*

TRONCHET, ☿ A., *Botanique.*

MAYET, *, ☿ I., ☿, *Anthropologie.*

PELOSSE, ☿ I., *Sériciculture.*

DARESTE DE LA CHAVANNE, ☿ I., *Géographie physique.*

SEYEWETZ, *, ☿ I., *Matières colorantes artificielles.*

COLONGE, ☿ A., *Chimie générale.*

Secrétaire

M. ROUX, ☿ A.



SUR LES RELATIONS EXISTANT ENTRE RESPIRATION ET FERMENTATION CHEZ *PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM*

AVANT-PROPOS

At least as far as the breakdown of carbohydrates is concerned, the uniformity in principle of the metabolism of all types of cells, whether animal, plant or microorganism, may be accepted as proved.

OPPENHEIMER-STERN (47).

Considérées du point de vue de la physiologie cellulaire générale, les bactéries propioniques constituent un sujet d'étude particulièrement intéressant : ce sont, en effet, des organismes qui sont capables de s'attaquer à un grand nombre de substances de constitutions chimiques diverses, tout en mettant en œuvre un nombre restreint de réactions élémentaires qui paraissent être suffisamment simples pour pouvoir être étudiées avec fruit.

Parmi ces réactions, il convient de citer des oxydo-réductions tout à fait remarquables qui jouent un rôle fondamental dans la fermentation des acides lactique et pyruvique et dans celle de la glycérine par exemple : les unes aboutissent à une sorte de dismutation entre deux groupes alcool secondaire, la

réduction d'un groupe $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}- \\ | \\ \text{OH} \end{array}$ en groupe $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}- \\ | \\ \text{H} \end{array}$ étant couplée

à l'oxydation d'un autre groupe $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}- \\ | \\ \text{OH} \end{array}$ en groupe $\begin{array}{c} -\text{C}- \\ || \\ \text{O} \end{array}$; d'au-

tres correspondent toujours à la réduction d'un groupe $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}- \\ | \\ \text{OH} \end{array}$

en $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}- \\ | \\ \text{H} \end{array}$, mais sont couplées à l'oxydation d'un groupe $\begin{array}{c} -\text{C}- \\ || \\ \text{O} \end{array}$,

cétonique ou aldéhydique, avec production de l'acide correspondant. Les bactéries propioniques se montrent ainsi aptes non seulement à réaliser la dismutation de l'acide pyruvique telle qu'on la rencontre fréquemment soit chez les animaux supérieurs [35], soit chez une série de micro-organismes [34], mais aussi à pousser en quelque sorte cette dismutation d'un degré plus loin, en donnant naissance finalement à une fonction CH_2 là où se trouvait initialement une fonction CO .

Parmi les bactéries propioniques actuellement connues, *Propionibacterium pentosaceum* occupe une position spéciale. Sans insister ici sur l'aptitude de cette espèce à fermenter, non seulement des substances attaquées par les autres bactéries propioniques, mais aussi certains pentoses (arabinose et ribose), nous signalerons que *Propionibacterium pentosaceum* constitue une espèce bien définie, dont il existe actuellement dans une série de laboratoires, notamment aux Etats-Unis, à la Iowa Agricultural Experiment Station, à Ames, et au laboratoire de Agricultural Bacteriology de l'Université de Wisconsin à Madison, et en Hollande à Delft au Laboratorium voor Microbiologie de l'Ecole technique, plusieurs cultures, provenant d'une seule et même souche isolée et caractérisée initialement par Van Niel à Delft. *Propionibacterium pentosaceum* a fait ainsi, ces dernières années, dans ces différents laboratoires, l'objet d'assez nombreuses recherches, avec ce grand avantage que les résultats obtenus peuvent, d'un laboratoire à l'autre, être facilement comparés entre eux.

Dans le présent travail ont été étudiés quelques aspects des métabolismes anaérobie et aérobie du glucose, de l'acide lactique et de l'acide pyruvique chez *Prop. pentosaceum*, notre at-

ten tion étant plus particulièrement concentrée sur la question essentielle de savoir par quel mécanisme sont régis chez cet organisme, les rapports existant entre fermentation et respiration.

La dépendance réciproque de la fermentation et de la respiration dans un système cellulaire entier normal a été mise en évidence par Pasteur au cours de ses recherches sur la fermentation alcoolique par les levures et depuis lors, on désigne, comme on le sait, sous le nom d'*Effet Pasteur* la substitution totale ou partielle, en aérobiose, des processus de fermentation existant seuls en anaérobiose, par des processus d'oxydation aux dépens de l'oxygène moléculaire; cette substitution ayant en outre pour effet de diminuer la vitesse de destruction du substrat en aérobiose.

L'étude particulièrement intéressante de ce phénomène chez *Prop. pentosaceum* a été exclusivement poursuivie à l'aide de méthodes permettant d'observer le comportement de la cellule vivante entière. C'était une première étape indispensable à franchir pour connaître quels types de réactions intermédiaires et quels types de système enzymatiques entraient en jeu.

Après avoir, dans une partie préliminaire, exposé et discuté les diverses équations rendant compte des fermentations du glucose et des acides lactique et pyruvique sous l'action des bactéries propioniques, et après avoir rappelé le peu que l'on sait du métabolisme aérobie de ces mêmes organismes, nous décrivons dans un premier chapitre les techniques générales dont nous avons fait usage. Le chapitre suivant (chapitre II) est plus spécialement consacré à l'étude cinétique des dégradations anaérobie et aérobie du glucose et des acides lactique et pyruvique par *Propionibacterium pentosaceum* dans différentes conditions; puis viennent des chapitres dans lesquels est étudiée l'influence, sur cette cinétique, de quelques substances dont on sait d'autre part qu'elles peuvent agir éventuellement en inhibiteurs ou activateurs du métabolisme : Fluorure de sodium et acide monoiodacétique (chapitre III). Cystéine et Hydrogène sulfuré (chapitre IV), Cyanure et Oxyde de carbone (chapitre V). Dans une dernière partie enfin les résultats

obtenus au cours des recherches précédentes, sont discutés et comparés aux données que nous possédons sur d'autres cellules ou d'autres tissus.

Le présent travail a été exécuté au laboratoire de Chimie biologique de la Faculté des Sciences de Lyon. Il a été inspiré et dirigé par le Professeur Cl. Fromageot, dont je demeure l'élève la plus reconnaissante et la plus dévouée.

INTRODUCTION

Les bactéries propioniques qui constituent le genre *Propionibacterium*, sont des organismes Gram-positif, contenant de la catalase, ne liquéfiant pas la gélatine, immobiles et ne formant pas d'endospores; mais leur caractère distinctif, celui auquel elles doivent leur nom, est leur aptitude à produire, à côté d'autres acides, et notamment d'acide acétique, des quantités importantes d'acide propionique à partir de substances telles que : glucides, acides organiques, polyalcools et glucosides [45, 72].

1. *Métabolisme anaérobie.* — Les diverses réactions impliquées dans la formation anaérobie d'acide propionique ont donné lieu à d'importantes recherches dont Van Niel [45] a déjà exposé l'historique; nous n'en retiendrons ici que ce qui est indispensable à la clarté du présent travail, en considérant seulement le métabolisme des substances qui feront plus loin l'objet de notre étude.

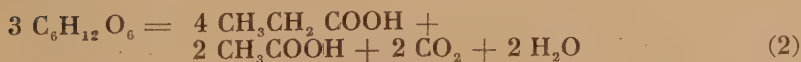
C'est à Fitz [17] que l'on doit les premières équations précises destinées à représenter la fermentation propionique de l'acide lactique et plus tard à Virtanen [65], celles qui correspondent aux fermentations du glucose et de l'acide pyruvique.

Ces équations sont les suivantes :

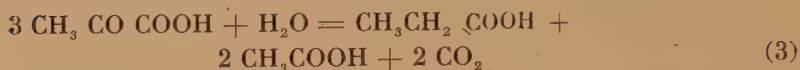
1° Fermentation propionique de l'acide lactique :



2° Fermentation propionique du glucose :



3° Fermentation propionique de l'acide pyruvique :



Ces équations montrent qu'au cours de la fermentation des trois substances considérées, il apparaît, à côté de l'acide propionique, une certaine quantité d'acide acétique, le rapport du nombre de molécules d'acide propionique à celui des molécules d'acide acétique produites, devant être alors de 2 dans les deux premiers cas et de 0,5 dans le troisième. Dans son très important travail sur les bactéries propioniques, Van Niel a pu confirmer dans l'ensemble, les résultats obtenus par les deux auteurs précédents, mais a aussi obtenu des résultats expérimentaux s'écartant nettement de ceux que permettent de prévoir les équations de Fitz et de Virtanen; de nombreuses expériences de Van Niel faites avec différentes espèces de bactéries propioniques mettent en effet en évidence des rapports qui, dans le cas de la fermentation du glucose ou de l'acide lactique dépassent fortement 2 ou 3, atteignent 5 et qui dans le cas de la fermentation de l'acide pyruvique sont voisins de 0,75. De tels écarts mettant en cause la validité de ces équations, il convenait de préciser les conditions expérimentales de ces réactions.

Comme le font remarquer Fromageot et Bost [19], les bilans de ces réactions ont été établis avec des organismes en voie de croissance en *milieux complexes*, de même que les schémas proposés ultérieurement par Wood et Werkman [78] et par Stone, Erb et Werkman [59]. En effet, tant que les bactéries propioniques ont été considérées comme nécessitant pour leur développement de l'azote sous forme complexe [45,72] les milieux utilisés pour leur culture ont été nécessairement mal définis. L'une des meilleures sources d'azote complexe étant constituée par des extraits de levure, les expériences de bilan ont été effectuées en faisant croître les bactéries propioniques sur de l'eau de levure additionnée des substances hydrocarbonées définies à étudier. C'est dire que, dans ces conditions, les microorganismes avaient à leur disposition aussi bien pour

leur croissance que pour l'exercice de leur action fermentaire, une série de molécules organiques de nature inconnue autres que le substratum défini. On imagine aisément les difficultés d'interprétation des résultats ainsi obtenus, car il n'est pas toujours facile de discerner l'action qui doit être attribuée à la substance définie introduite dans le milieu, de celle qui résulte de la transformation des molécules organiques complexes qui l'accompagnent. Van Niel explique l'excès d'acide propionique ou encore la formation abondante d'acide succinique observés dans ses cultures par l'aptitude des molécules organiques complexes présentes à agir soit en accepteurs soit en donateurs d'hydrogène.

Les difficultés d'interprétation des équations précédentes ont été en grande partie résolues par les recherches de Fromageot et Bost [19] et de Fromageot et Safavi [23]. Ces auteurs ensemencent les bactéries propioniques non pas sur un milieu complexe mais sur un milieu décrit antérieurement par Fromageot et Laroux [21] et par Fromageot et Piret [22] qui, sans être rigoureusement synthétique, se trouve cependant défini en ce qui concerne les substances jouant un rôle « massif » dans le métabolisme (glucose comme source de carbone et ammoniacque comme source d'azote), la fraction indéterminée du milieu de culture étant pondéralement négligeable et représentée par l'extrait de maïs activateur de croissance indispensable (*). Le métabolisme des bactéries en voie de croissance dans un milieu ainsi défini est alors comparé d'une part à celui de bactéries croissant sur un milieu *complexe* contenant de l'eau de levure et la source de carbone étudiée, et d'autre part à celui de bactéries placées en masses non proliférantes dans une solution minérale très simple exempte d'azote et les bilans de fermentation d'une substance hydrocarbonée donnée, permettent de mettre en évidence dans ces différentes conditions, à côté des fermentations correspondant aux équations

* La possibilité de faire croître les bactéries propioniques dans des conditions analogues a été reconnue indépendamment par Tatum et Col. [63, 64, 77] ; une confirmation de ces résultats a été apportée ultérieurement par Wood, Andersen et Werkman [75].

(1), (2), (3), deux phénomènes agissant en sens inverse sur la valeur du rapport :

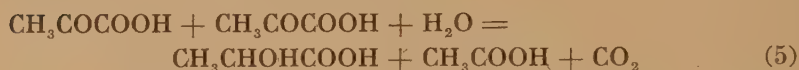
$$\frac{P}{A} = \frac{\text{molécules acide propionique}}{\text{molécules acide acétique}}$$

a) Quand les bactéries croissent en milieux définis, il se forme un gros excès d'acide acétique; la fermentation est liée aux synthèses cellulaires (Wurmser [81]). La substance bactérienne synthétisée, représentée par [HCHO], et l'acide acétique, se forment d'après les équations suivantes :

1° Cas du glucose et de l'acide lactique :

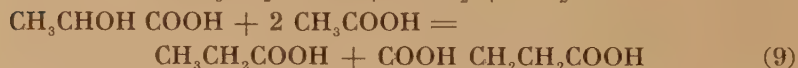
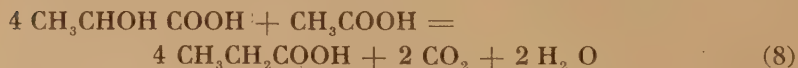


2° Cas de l'acide pyruvique :



Ce type de fermentation tend ainsi à abaisser le rapport P/A.

b) D'autre part, aussi bien dans le cas où les bactéries fermentent depuis plusieurs heures indépendamment de toute croissance dans une solution minérale dépourvue d'azote, que dans le cas où les bactéries fermentent tout en croissant sur un *milieu complexe*, l'acide acétique fonctionne en donateur d'hydrogène et le rapport P/A s'élève considérablement :



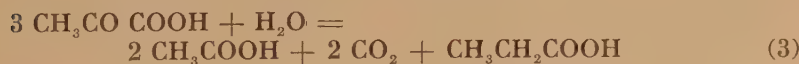
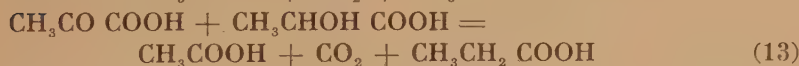
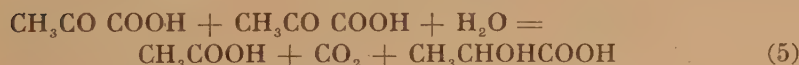
Il ressort enfin de ces expériences que les équations (1), (2) et (3) données précédemment ne sont valables que si la fermentation du glucose, de l'acide lactique ou de l'acide pyruvique par les bactéries propioniques en général et *Prop. pen-*

tosaceum en particulier, a lieu dans un milieu simple, indépendamment de toute croissance, et pendant des périodes ne dépassant pas 3 heures après la mise en contact des bactéries et du substratum, et que si l'on tient compte en outre de la petite quantité d'acide lactique formée au cours de la fermentation du glucose et de l'acide pyruvique. Ces réactions (1), (2) et (3) ne sont d'ailleurs elles-mêmes que la somme des réactions plus simples suivantes (*) :

1° Fermentation du glucose et de l'acide lactique :



2° Fermentation de l'acide pyruvique :



Comme tout au long du présent travail les bactéries propioniques ont été placées dans des conditions excluant toute croissance, et étudiées pendant des temps courts, les réactions (1), (2), (3) rendront compte des phénomènes observés, qu'il s'agisse de l'attaque anaérobie du glucose, de l'acide lactique ou de l'acide pyruvique.

L'acide lactique devant être considéré comme un terme in-

* Ces équations sont expérimentalement justifiées par la mise en évidence du rôle de corps intermédiaire joué par l'acide pyruvique [79, 76].

termédiaire de la fermentation propionique du glucose [19, 78, 23, 76, 18, 24, 48], on peut se demander si la voie suivie par cette fermentation du glucose jusqu'au stade acide lactique est la même que celle qui, correspondant aux réactions de phosphorylation aujourd'hui classiques, découvertes par Embden, Meyerhof, Parnas et leurs collaborateurs, se rencontre dans le métabolisme anaérobie du muscle, de la levure et aussi de certaines bactéries telles que *Bacterium Coli* [15]. Cette question sera ultérieurement étudiée et discutée à propos de *Prop. pentosaceum*.

II. *Métabolisme aérobie*. — L'étude du métabolisme aérobie est beaucoup moins avancée. Les bactéries propioniques ont été généralement considérées comme étant des organismes anaérobies bien que la présence maintes fois observée de catalase [65 et 58] chez ces organismes ait pu indiquer la possibilité d'une activité respiratoire normale. En fait, Van Niel [45] a remarqué que des bactéries propioniques en croissance sur un milieu de culture complexe fortement aéré attaquent l'acide lactique en donnant naissance à une quantité d'acide acétique considérablement plus élevée qu'en anaérobiose, et Fromageot et Bost [19] ont eu l'occasion de faire la même observation avec *Prop. pentosaceum*. Le seul travail précis se rapportant à l'attaque aérobie de l'acide lactique est dû à Erb, Wood et Werkman [16] qui, avec *Prop. arabinosum* et *Prop. pentosaceum* ont montré que le premier stade de l'oxydation aboutissait comme dans le cas de l'anaérobiose, à la formation d'acide pyruvique suivant la réaction :



Mais ces auteurs ont négligé de donner le poids sec des masses bactériennes utilisées, de telle sorte que le calcul de la vitesse d'oxydation de l'acide lactique ne peut être tirée de leurs expériences.

Comme on le voit, nos connaissances relatives à la respiration des bactéries propioniques sont très sommaires. Le présent travail s'est également proposé comme but de les compléter.

CHAPITRE PREMIER

A. — Principe de la méthode générale suivie au cours du présent travail

Ce travail est limité à l'étude du métabolisme d'une cellule vivante entière non proliférante. Aucune tentative n'est encore faite ici dans le sens de l'isolement des réactions et des systèmes fermentaires mis en évidence.

La mesure de l'activité du métabolisme de *Prop. pentosaceum* est effectuée à l'aide de la microméthode manométrique de Warburg, soit dans des conditions physiologiques, soit en soumettant les cellules bactériennes à l'influence de substances connues pour exercer sur certains systèmes enzymatiques définis une action activatrice ou inhibitrice, plus ou moins spécifique.

La valeur de ce genre de méthode repose évidemment sur la confiance que l'on peut accorder aux résultats obtenus en comparant d'une part l'influence d'un réactif bien déterminé sur le métabolisme global que l'on étudie, avec d'autre part ce que l'on connaît préalablement de l'influence du même réactif (généralement une inhibition) sur une phase précise de l'activité cellulaire. L'on doit faire ici la remarque suivante : si un poison cellulaire donné, connu pour freiner ou arrêter une réaction précise, n'exerce aucune inhibition sur le métabolisme étudié, on peut conclure que la réaction bloquée par cette substance n'intervient vraisemblablement pas dans ce métabolisme; mais si, inversement, on constate que cette substance bloque ce métabolisme, on ne peut guère conclure qu'à la possibilité de l'existence de la réaction correspondante, le degré de probabilité de cette existence dépendant de la spécificité plus ou moins grande de l'action du réactif en question; cette

probabilité peut d'ailleurs se rapprocher d'une certitude si d'autres réactifs, connus eux aussi pour bloquer la même réaction précise, se révèlent être des inhibiteurs vis-à-vis du métabolisme étudié.

Les substances dont nous avons étudié l'action à ce point de vue sont les suivantes :

Fluorure de sodium, Acide monoïodacétique, Acide malonique, Hydrogène sulfuré et Cystéine, Cyanure de potassium et Oxyde de carbone.

B. — Techniques générales

Bactéries utilisées. — Les bactéries propioniques utilisées ici appartiennent le plus souvent à l'espèce *Propionibacterium pentosaceum*; elles proviennent indifféremment soit du Laboratoire de Bactériologie agricole de l'Université du Wisconsin, à Madison, soit du Laboratoire de Microbiologie de la Technische Hoogeschool, à Delft (*). En principe, ces organismes correspondent à la souche isolée initialement par Van Niel, à Delft, où elle est conservée sous le numéro 4; cette souche est actuellement désignée sous le numéro 11 dans les travaux de Fred et collaborateurs (Madison, Wisc.) et sous le numéro 49 W dans les travaux de Werkman et collaborateurs (Ames, Iowa). Quelques expériences ont été aussi faites avec *Propionibacterium Zeae*, espèce isolée et décrite par Hitchner [27] et conservée à Madison sous le numéro 56.

L'entretien des organismes en question se fait par repiquage, à des intervalles de deux semaines, dans des tubes à essais renfermant un milieu constitué par de l'eau de levure simple(**) additionnée de 0,25 % de glucose et de 1,5 %

* Nous sommes heureux d'adresser ici à MM. les Professeurs Fred et Kluyver, Directeurs respectifs de ces deux Laboratoires, tous nos remerciements pour l'envoi des cultures bactériennes dont il est question ici.

** L'eau de levure simple se prépare en traitant à l'autoclave à 120° pendant trois heures une suspension de 100 g. de levure pressée du commerce dans 1 litre d'eau ; le liquide obtenu après refroidissement et décantation est filtré une première fois sur kieselguhr avant d'être additionné de glucose.

L'eau de levure double se fait de façon analogue, mais en utilisant 200 g. de levure par litre d'eau.

d'agar ; après quelques jours d'incubation à 28°, on obtient ainsi des cultures qui ont poussé en profondeur (en épingle) et qui sont alors conservées à l'obscurité, à la température ordinaire.

L'obtention des bactéries en masses suffisantes pour les expériences proprement dites se fait de la façon suivante : on prépare des ballons Kjeldahl de 500 cc. renfermant 400 cc. d'eau de levure double glucosée à 2 % et qui, très soigneusement filtrée sur kieselguhr est parfaitement limpide. On sème ces ballons avec une suspension obtenue en agitant dans quelques cc. d'eau distillée stérile les bactéries de l'un des tubes de culture préparés comme il vient d'être dit. Après ensemencement, les ballons sont maintenus à l'étuve à 28° pendant un temps variant de 38 à 64 heures ; les bactéries sont ensuite récoltées par centrifugation puis lavées à l'eau salée, (0,9 % NaCl) au moins quatre fois, par mises en suspension et par centrifugations successives, ces lavages répétés ayant pour but d'assurer une élimination parfaite de tous les éléments du milieu de culture qui auraient pu être entraînés par les cellules. La totalité de la récolte est alors mise en suspension dans un volume connu d'une solution saline de composition convenable (NaCl 0,9 %, ou mélange de phosphates tamponné à 6,4 ou mélange de NaCl 0,9 % CO_3NaH 0,16 % saturé de CO_2 , également à pH 6,4). La teneur en bactéries de cette *suspension mère* est déterminée en retranchant du poids sec (10 heures à 110°) d'un volume donné de cette suspension, le poids sec d'un égal volume de la solution saline correspondante. C'est également dans cette *suspension mère* que sont prélevées les masses bactériennes dont le métabolisme doit être étudié.

C. — Méthodes et conditions des mesures

L'activité des masses bactériennes non proliférantes ainsi préparées, est suivie par la mesure des vitesses de leur métabolisme en présence de différents substratums dans différen-

tes conditions. Ces vitesses sont calculées à partir des dégagements ou des absorptions gazeuses mesurées à l'aide de la microméthode manométrique de Warburg. Nos expériences sont toutes effectuées avec des bactéries placées dans un milieu dont le pH est maintenu à 6,4 soit par un mélange, à la concentration de 0,05 M, des phosphates monosodique et dipotassique, soit par un mélange de NaCl 0,9 % et CO_3NaH , 0,16 % saturé de CO_2 . (Pour abréger, ces solutions sont respectivement désignées dans la suite de cet exposé sous les noms de solution de phosphate et solution de bicarbonate.) Il n'est en effet pas sans intérêt de pouvoir comparer l'activité cellulaire en présence de ces deux types de solutions tampon car il est parfaitement possible a priori, que les cellules se comportent de façon différente en milieu phosphaté ou en milieu bicarbonaté, soit que le rôle important joué par les phosphates dans le métabolisme des hydrates de carbone se manifeste chez *Prop. pentosaceum* d'une façon aussi sensible qu'avec les systèmes enzymatiques déséquilibrés (extraits aqueux, poudre sèche) d'autres cellules, soit que le métabolisme normal de ces bactéries se trouve altéré par la présence de phosphates comme Warburg [69] l'a fait remarquer particulièrement dans le cas de nombreux tissus.

Les différents substratums étudiés sont (sauf mention spéciale) introduits dans le milieu à la concentration de 0,5 %.

Le glucose est le produit vendu par la Maison Prolabo.

L'acide lactique est utilisé sous forme de son sel de sodium, lui-même obtenu par réaction entre le lactate de calcium cristallisé et le carbonate de sodium.

L'acide pyruvique est préparé au laboratoire selon la technique habituelle et soigneusement purifié avant son emploi par rectification sous vide. Il est utilisé sous forme de son sel de sodium, obtenu en faisant réagir cet acide sur une solution de bicarbonate de sodium.

L'atmosphère surmontant les suspensions bactériennes en expérience est, *en anaérobiose* du gaz carbonique si le milieu est tamponné avec du bicarbonate de soude, et de l'azote si le

milieu est tamponné avec des phosphates; *en aérobiose*, un mélange à parties égales d'oxygène et de gaz carbonique si le milieu est tamponné avec du bicarbonate de soude, et de l'air si le milieu est tamponné avec des phosphates.

Le passage du gaz ou du mélange gazeux utilisé se fait dans les récipients de l'appareil de Warburg alors que ces récipients contiennent déjà les solutions salines. Ce passage dure six minutes, dont trois minutes avant et trois minutes après l'introduction des bactéries, les récipients accrochés aux manomètres étant agités à la main pendant tout ce temps afin d'obtenir une bonne saturation des liquides. Après quoi, les récipients sont plongés dans le bain-marie de l'appareil de Warburg constamment maintenu dans nos expériences à une température de 29°, et ils sont agités à une vitesse suffisante pour atteindre et maintenir rigoureusement les conditions d'équilibre physique de l'appareil et les conditions d'équilibre biologique des bactéries. Les lectures des dénivellations manométriques ne sont commencées qu'après obtention d'un équilibre thermique parfait, c'est-à-dire une demi-heure au moins après la mise au bain-marie des récipients.

Dans le cas très simple du métabolisme anaérobie, les dénivellations manométriques observées sur un seul manomètre et correspondant uniquement à un dégagement de CO_2 permettent de calculer immédiatement la vitesse de fermentation de la masse bactérienne placée dans le récipient accroché au manomètre.

Dans le cas de l'étude du métabolisme aérobie au contraire, pour mesurer exactement à la fois l'absorption de O_2 et le dégagement de CO_2 , deux procédés sont possibles :

1° si le milieu est tamponné avec du bicarbonate de soude, l'atmosphère gazeuse étant un mélange 50 % O_2 + 50 % CO_2 , il convient de faire usage de la méthode dite des doubles manomètres dans laquelle, nous le rappelons brièvement, on se sert de deux manomètres correspondant à des récipients de volumes aussi voisins que possible mais dont les constantes par rapport à O_2 et CO_2 sont rendues aussi différentes que possible par l'emploi de volumes liquides suffisamment iné-

gaux (2 et 6 cc. par exemple). Un calcul classique permet alors de déterminer d'après les dénivellations lues simultanément sur les deux manomètres, les quantités d'oxygène absorbé et de CO_2 dégagé au cours de l'expérience.

2° si le milieu est tamponné avec des phosphates en présence d'air, on peut non seulement faire usage, comme précédemment, de la méthode des doubles manomètres, mais aussi dans certains cas de la méthode dite à la potasse : l'oxygène consommé est directement mesuré à l'aide d'un manomètre muni d'un récipient en forme d'erlenmeyer, contenant, outre la suspension bactérienne placée dans la partie principale de ce récipient, 0,2 ou 0,3 cc. de KOH 5 % placés dans un petit réservoir central et destinés à fixer tout le gaz carbonique du milieu; un deuxième manomètre muni d'un récipient préparé de la même façon que le précédent mais sans potasse permet facilement de calculer le gaz carbonique dégagé, connaissant l'oxygène absorbé.

Les vitesses d'absorption et de dégagement gazeux ainsi mesurées au cours de la fermentation ou de la respiration sont rigoureusement constantes. Elles peuvent donc être représentées selon les conventions habituelles, par les symboles :

$Q_{\frac{\text{CO}_2}{\text{CO}_2}}$ et $Q_{\frac{\text{N}_2}{\text{CO}_2}}$ = nombre de mm^3 de CO_2 dégagé par fermentation en atmosphère de CO_2 ou de N_2 , par heure et par mg. de bactéries (poids sec).

Q_{O_2} = nombre de mm^3 d'oxygène consommé par respiration, en aérobiose, par heure et par mg. de bactéries.

$Q_{\frac{\text{O}_2}{\text{CO}_2}}$ = nombre de mm^3 de CO_2 dégagé en aérobiose, par heure et par mg. de bactéries.

Le calcul de la quantité de métabolite disparu en anaérobiose ou en aérobiose à partir des données manométriques est particulièrement intéressant: il nécessite la connaissance exacte des réactions de dégradation.

Comme la remarque en a été faite précédemment (p. 9) les

dégradations anaérobies des substances étudiées dans ces conditions suivent à peu près les équations fondamentales (1), (2) et (3) de la fermentation propionique.

Soulignons ici que, d'après l'équation (2), et toutes choses égales d'ailleurs, la quantité de CO_2 dégagée au cours de la fermentation du glucose en présence de bicarbonate, doit être quatre fois plus grande que celle observée en présence de phosphates, par suite de l'apparition de fonctions acides dans le milieu, alors que dans la fermentation des acides lactique ou pyruvique, toujours utilisés sous forme de leur sel de sodium il n'en est pas ainsi; les équations (1) et (3) indiquent, en effet, qu'il disparaît autant de fonctions acides qu'il en apparaît et que le CO_2 dégagé correspond uniquement au CO_2 réellement libéré par la fermentation, aussi bien en solution bicarbonatée qu'en solution phosphatée.

Il convient en outre de tenir compte dans le cas du glucose, que 20 % environ du glucose disparu donne naissance à de l'acide lactique (ce qui modifie sensiblement la valeur du rapport : *glucose disparu* : CO_2 *apparu*, par comparaison avec celui que l'on calcule à partir de l'équation (2), et que, dans le cas de la fermentation du lactate de sodium ou du pyruvate de sodium, le nombre des molécules de propionate et d'acétate de sodium formées est égale au nombre des molécules de substratum attaquées. Compte tenu de ces différentes remarques, il est possible de calculer que 1 mm³ de CO_2 de fermentation correspond à :

— glucose en γ	
— en solution de bicarbonate.....	3,21
(au lieu de 3,01 si l'acide lactique disparaissait aussitôt formé).	
— en solution de phosphates	15,0
(au lieu de 12,0 si l'acide lactique disparaissait aussitôt formé).	
— acide lactique en γ	12,0
— acide pyruvique en γ	5,9

En ce qui concerne l'aérobiose, on ignore à quelles réactions précises correspondent les processus d'oxydation; nous admettons néanmoins dès maintenant, et ceci sera justifié en partie

plus tard, que l'oxydation du glucose et celle du pyruvate de sodium, aussi bien en solution de phosphates qu'en solution de bicarbonate, sont des oxydations totales, alors que celle du lactate de sodium à peu près totale en solution de bicarbonate, n'est que partielle, en solution de phosphates et aboutit en grande partie tout au moins, à la formation de pyruvate. Cette manière de voir permet d'écrire les quotients respiratoires et les correspondances entre l'oxygène absorbé et la quantité de métabolite disparu de la façon suivante :

1 mm³ de O₂ absorbé correspond à :

		CO ₂ /O ₂
Glucose	1,34 γ	1
Acide pyruvique	1,57 γ	0,80
Acide lactique :		
— en solution de bicarbonate.....	1,34 γ	0,67
— en solution de phosphates et compte tenu du CO ₂ dégagé, attribué à l'acide pyruvique oxydé	8,04 γ	0,00

Dans ce qui suit, nous désignerons par F, f et R la quantité, exprimé en γ, des différentes substances métabolisées respectivement par fermentation en anaérobiose, par fermentation en aérobiose et par respiration, par mg. de bactéries et par heure, ces valeurs étant calculées à partir des données expérimentales manométriques et des coefficients de transformation qui viennent d'être établis.

CHAPITRE II

RESPIRATION ET FERMENTATION NORMALES CHEZ PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM EN PRESENCE DE DIFFERENTES SUBSTANCES

Avant d'aborder la recherche des différents types de réactions fermentaires impliqués dans le fonctionnement des cellules de *Prop. pentosaceum* à l'aide de certains poisons enzymatiques spécifiques, il nous a paru nécessaire de mieux définir leur activité normale en mesurant la vitesse de leur métabolisme anaérobie et aérobie en présence de glucose, d'acide lactique et d'acide pyruvique. N'ayant trouvé à ce propos aucun renseignement bibliographique, tous les résultats de nos mesures ont été réunis dans les 8 tableaux suivants; un certain nombre de ces mesures ont d'ailleurs servi de témoins dans d'autres expériences qui seront discutées ultérieurement.

En l'absence de tout substratum, les cellules de *Prop. pentosaceum* mises en suspension dans des solutions tampon de bicarbonate ou de phosphate, en aérobiose ou en anaérobiose, présentent une certaine activité respiratoire ou fermentaire qui correspond au métabolisme de base de ces organismes. Le tableau I donne quelques indications quantitatives à cet égard.

TABLEAU I

MÉTABOLISME DE BASE

N ^o de l'expérience	Age des bactéries (heures)	Poids des bactéries mg./5 cc.	$\frac{CO_2 \text{ ou } N_2}{Q_{CO_2}}$	$\frac{O_2}{Q_{CO_2}}$	Q_{O_2}	$\frac{C_{O_2}}{C_{CO_2}} / \frac{Q_{O_2}}{Q_{CO_2}}$
<i>en solution de bicarbonate</i>						
380505	63	18,4	4,1	0,0 3,0	5,4 7,0	0,00 0,43
380509	64	17,7	4,0	0,0 0,0	2,0 4,0	0,00 0,00
390317	64	17,0	4,5	1,0	5,0	0,20
390323	47	14,7	—	0,8	1,6	0,50
390510	47	14,1	—	2,1	2,9	0,73
		Moyenne :	4,2	0,10	4,0	0,27
<i>en solution de phosphates</i>						
390313	39	9,1	1,0	—	8,3	—
390720	39	25,0	—	—	8,0	—

Malgré les variations assez grandes des valeurs obtenues d'une expérience à l'autre, et qui peuvent être mises en partie sur le compte des erreurs inhérentes aux mesures de faibles échanges gazeux en présence de suspensions bactériennes trop concentrées, on est en droit de conclure de ces expériences que l'ordre de grandeur du métabolisme de base est peu élevé. Devant l'impossibilité de savoir si ce métabolisme de base continue ou non à se manifester en présence des différents substratum qui exercent une action accélératrice importante sur la vitesse de fermentation et de respiration, et devant le peu d'importance des échanges gazeux qui pourraient lui être attribué, nous donnerons les valeurs du métabolisme de *Prop. pentosaceum* en présence des différents substrats sans faire intervenir aucune correction se rapportant au métabolisme de base.

A. — Métabolisme du glucose

L'intensité des échanges gazeux correspondant au métabolisme du glucose en anaérobiose et en aérobiose est donnée dans les tableaux II et III.

TABLEAU II

MÉTABOLISME DU GLUCOSE EN SOLUTION DE BICARBONATE

N° de l'expérience	Age des bactéries (heures)	Poids des bactéries mg./5 cc.	Q_{CO_2}	Q_{O_2}	Q_{O_2}	Q_{O_2} / Q_{CO_2}
360615	63	2,94	23,3	—	—	—
360622	63	3,75	22,6	—	—	—
361203	63	8,15	—	15,6	7,6	2,04
361217	63	5,46	—	28,7	20,4	1,4
370111	63	4,00	22,9	—	—	—
370114	63	3,97	21,5	—	—	—
370118	63	7,9	—	23,0	15,7	1,47
370121	63	8,8	—	22,7	16,3	1,39
370204	63	14,9	—	26,7	20,4	1,31
370308	63	12,5	—	22,3	17,2	1,3
371122	64	6,9	26,9	19,1	13,5	1,41
380226	64	11,6	24,0	21,6	15,2	1,42
380328	64	13,7	24,0	16,1	12,6	1,28
380331	64	17,1	17,3	21,2	16,5	1,29
380407	63	14,2	21,4	23,4	18,4	1,27
380502	63	18,1	20,0	15,0	12,0	1,25
380505	63	18,4	23,8	11,5	11,8	0,98
380509	64	17,7	17,5	14,4	12,0	1,20
380512	63	8,1	27,2	22,8	15,2	1,50
380516	63	9,6	25,0	25,0	18,0	1,39
380519	63	18,0	19,1	22,0	15,6	1,41
380523	63	10,7	28,6	29,0	21,3	1,36
380527	63	21,2	18,2	20,7	14,0	1,48
380609	46	15,6	28,0	37,0	26,0	1,42
380613	47	9,3	29,0	—	—	—
381006	47	17,2	29,0	—	—	—
381010	47	13,2	—	31,0	23,0	1,35
381103	62	12,6	29,4	18,5	14,5	1,28
390209	63	17,2	—	22,5	17,2	1,31
390213	47	8,5	36,8	30,6	22,3	1,37
390317	64	17,9	27,8	31,0	21,8	1,42
390323	47	14,7	24,3	23,9	17,9	1,90
			—	26,0	12,4	2,1
			—	23,8	13,2	1,82
			—	18,3	14,2	1,29
			—	14,5	11,7	1,24
			—	17,2	13,3	1,29
			—	11,4	9,7	1,18
		Moyennes	25	22	16	1,4

TABLEAU III

MÉTABOLISME DU GLUCOSE EN SOLUTION DE PHOSPHATES

Les chiffres marqués * ont été obtenus en employant de la potasse pour fixer le CO_2 dégagé; les autres correspondent à des mesures faites par la méthode dite des doubles manomètres.

N° de l'expérience	Age des bactéries (heures)	Poids des bactéries mg./5 cc.	$\text{Q}_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}$	$\text{Q}_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2}$	Q_{O_2}	$\text{Q}_{\text{CO}_2}^{\text{O}}/\text{Q}_{\text{O}_2}$
380523	63	10,7	7,4	21,7	23,8	0,91
380527	63	21,2	5,0	16,3	17,8	0,92
380609	46	15,6	8,6	32,0	33,7	0,95
381010	47	13,2	—	34	36,0	0,94
				25	30,0*	0,83
381103	62	12,6	12,3	19	20,4*	0,93
381114	47	14,6	—	—	22,4*	—
				24	25,0*	0,96
				21,7	23,5*	0,92
				24,6	25,8*	0,95
381128	40	10,2	—	—	30,4*	—
				28,6	31,7	0,90
				29,4	32,0	0,92
				30,2	32,5	0,93
381205	40	12,5	—	35,2	35,6	0,99
				28,0	32,0*	0,88
				27,0	29,4*	0,92
390209	63	17,2	—	19,3	22,4*	0,86
390213	47	8,5	—	35,8	37,8	0,95
				26,5	30,8*	0,86
390227	38	11,5	—	—	35,6*	—
				—	38,0*	—
				—	37,4*	—
				—	37,0*	—
				—	36,8*	—
390308	39	13,4	10,6	—	24,4*	—
390313	39	9,1	10,7	—	28,7*	—
390526	47	17,3	6,8	18,0	22,0*	0,82
390602	47	15,2	5,4	15,0	18,0*	0,83
390608	47	16,0	7,0	19,4	21,5*	0,90
Moyennes			8	26	29	0,91

Les chiffres du tableau II appellent un certain nombre d'observations :

Les valeurs du métabolisme *anaérobie* et du métabolisme *aérobie* du glucose, en solution de bicarbonate, sont assez

constantes et s'écartent peu des valeurs moyennes $Q_{\text{CO}_2}^{\text{CO}_2} = 25$,

$Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} = 22$, $Q_{\text{O}_2}^{\text{O}_2} = 16,0$ ce sont ces valeurs moyennes seu-

les que nous considérerons ici, nous réservant de revenir ultérieurement sur le détail de chacune des expériences. Il appa-

rait, d'autre part, que le rapport $Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} / Q_{\text{O}_2}^{\text{O}_2}$ est très générale-

ment supérieur à 1 : sa valeur moyenne est de 1,4. Si l'on admet que l'oxydation du glucose correspond à une oxydation totale, c'est-à-dire à un quotient respiratoire de 1, le fait que

le rapport $Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} / Q_{\text{O}_2}^{\text{O}_2}$ observé est supérieur à 1 indique l'existence d'une certaine *fermentation aérobie* dont l'intensité est

égale à $Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} - Q_{\text{O}_2}^{\text{O}_2} = 6,4$. En tenant compte des relations don-

nées précédemment (p. 17) entre les quantités de gaz absorbé ou dégagé et les quantités de glucose métabolisé, il est alors possible d'exprimer l'intensité du métabolisme en quantités (γ) de glucose métabolisé par heure et par mg. de bactéries. On obtient ainsi les valeurs suivantes :

$$F = 80 ; f = 20 ; R = 22$$

qui montrent nettement que la vitesse du métabolisme du glucose en anaérobiose $F = 80$ est notablement supérieure à celle de son métabolisme total en aérobie ($f + R = 42$: on retrouve donc chez les bactéries propioniques l'*Effet Pasteur* classique; nous étudierons plus loin en détail ce phénomène.

Quant aux chiffres du tableau III donnant les valeurs du métabolisme du glucose *en solution de phosphates*, ils présentent, dans l'ensemble, comme les précédents, une régularité satisfaisante; néanmoins, quelques expériences, faites pourtant avec le même lot de bactéries, font apparaître certains écarts entre les valeurs du métabolisme aérobie mesuré par la méthode à la potasse ou par la méthode dite des doubles manomètres. Mais ces écarts sont d'un ordre de grandeur tel qu'ils

n'interviennent guère dans l'interprétation finale des résultats. L'intensité du métabolisme en anaérobiose et en aérobiose est

ainsi représentée par les valeurs moyennes $Q_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2} = 8,2$; $Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} =$

25,6 ; $Q_{\text{O}_2} = 29,0$. Le rapport $Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} / Q_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}$ est ici très légère-

ment inférieur à 1. Ainsi, en solution de phosphates, toute fermentation semble disparaître en aérobiose. L'intensité du métabolisme en anaérobiose et en aérobiose, exprimée en vitesse de disparition du glucose, correspond aux valeurs moyennes :

$F = 123$, $R = 39$, f étant pratiquement nul.

Ces valeurs mettent en évidence ici encore de façon particulièrement nette l'existence de *l'Effet Pasteur*. Elles montrent également que le métabolisme du glucose est sensiblement plus rapide en soluion de phosphate qu'en solution de bicarbonate.

B. — Métabolisme de l'acide lactique

L'intensité du métabolisme de l'acide lactique en anaérobiose et en aérobiose est donnée dans les tableaux IV et V.

TABLEAU IV

MÉTABOLISME DE L'ACIDE LACTIQUE EN SOLUTION DE BICARBONATE

N° de l'expérience	Age des bactéries (heures)	Poids des bactéries mg./5 cc.	$Q_{\text{CO}_2}^{\text{CO}_2}$	$Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2}$	Q_{O_2}	$Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} / Q_{\text{CO}_2}^{\text{CO}_2}$
370211	62	13,7	8,3	57	77	0,74
370215	62	10,4	8,2	55,5	72,5	0,76
390615	47	4,4	6,2	37	91	0,41
390621	38	0,98	—	37,8	68	0,55
id.	id.	4,9	7,2	—	—	—
Moyennes :			7,5	45	77	0,61

TABLEAU V

MÉTABOLISME DE L'ACIDE LACTIQUE EN SOLUTION DE PHOSPHATES

Les chiffres marqués * ont été obtenus en employant de la potasse pour fixer le CO₂ dégagé; les autres correspondent à des mesures faites par la méthode dite des doubles manomètres.

D = durée de mise en équilibre préalable, en heures.

T = temps d'expérimentation, en minutes.

N° de l'expérience	Age des bactéries (heures)	Poids des bactéries mg./5 cc.	D	N_2 Q_{CO_2}	T	O_2 Q_{CO_2}	Q_{O_2}	O_2 / Q_{CO_2}
390526	47	17,2	1/2	12,6	0-15 id.	— 24,2	104* 109*	— 0,22
390602	48	15,2	3/4	10,1	0-35	18,0	72*	0,25
390612	40	2,4	1	—	0-60 id. id.	— — —	155* 154* 153*	— — —
390615	47	4,4	1/2	7,9	0-25	51,5	117	0,44
290621	38	1,0	1/2	7,8	0-60	28,6	74	0,39
390629	40	2,8	3/4	—	0-30 30-60 0-30 30-60 90-120 0-30 id. id.	15 13 47 91 102 70 21 41	118* 101* 148 173 177 161 125 144	0,13 0,13 0,32 0,53 0,58 0,43 0,17 0,28
390703	40	2,2	1	—	0-60 id. id. id.	— — — —	125* 126* 126* 124*	— — — —
390706	38	2,7	2	—	3h-4h 0-40 id. id.	— 33 26 14	115* 141* 135* 130*	— 0,23 0,19 0,10
390710	40	2,2	1 1/4	—	0-60 id. 90-120	31 30,2 37,2	133* 133* 119*	0,23 0,23 —
Moyennes :				9,4		33,6	133	0,24

Les chiffres du tableau IV montrent que les valeurs du métabolisme de l'acide lactique, *en solution de bicarbonate*, s'expriment par :

$$\frac{Q_{CO_2}}{Q_{CO_2}} = 7,5 ; \frac{Q_{O_2}}{Q_{CO_2}} = 45 ; Q_{O_2} = 77.$$

le rapport $\frac{Q_{O_2}}{Q_{CO_2}} / Q_{O_2} = 0,61$ étant sensiblement égal au quotient d'oxydation totale du lactate (0,67). Cette oxydation totale étant admise, les valeurs précédentes converties en vitesse d'acide lactique métabolisé deviennent :

$$F = 90 ; R = 103 ; f = 0.$$

Contrairement à ce qui se passe dans le cas du glucose, le métabolisme total de l'acide lactique en aérobiose est supérieur à son métabolisme en anaérobiose.

Il convient d'ailleurs de remarquer que la valeur de R ainsi calculée est une valeur minima car on pourrait supposer que

la valeur du quotient $\frac{Q_{O_2}}{Q_{CO_2}} / Q_{O_2}$ correspond non pas à l'oxy-

dation totale du lactate, mais résulte à la fois de la dismutation de l'acide lactique, et de son oxydation en acide pyruvique, l'une se manifestant par un dégagement de CO_2 sans fixation de O_2 et l'autre, inversement, se manifestant par une fixation de O_2 sans dégagement de CO_2 . Calculée en faisant cette hypothèse, la quantité d'acide lactique métabolisée en aérobiose serait encore considérablement plus élevée.

En ce qui concerne le métabolisme aérobie de l'acide lactique *en solution de phosphates* (tableau V), il convient de souligner que contrairement à ce que l'on observe dans le cas des autres substratum, sa vitesse n'est pas constante au moins au début des mesures, ce qui modifie notablement la valeur du rapport

$\frac{Q_{O_2}}{Q_{CO_2}} / Q_{O_2}$. Pour cette raison, dans le tableau V sont données les vitesses du métabolisme pendant des temps bien définis. Malgré ces variations, qui se font d'ailleurs tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre, le calcul des valeurs moyennes suivantes n'est pas sans intérêt :

$$\frac{Q_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}}{Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2}} = 9,4 ; \frac{Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2}}{Q_{\text{O}_2}} = 34 ; Q_{\text{O}_2} = 133.$$

Comparés avec les précédents, ces chiffres montrent en effet tout de suite que le métabolisme aérobie de l'acide lactique est très notablement différent selon que les bactéries se trouvent en milieu bicarbonaté ou en milieu phosphaté : l'intensité du dégagement de CO_2 est du même ordre de grandeur dans les deux cas, mais la consommation d'oxygène est au contraire beaucoup plus élevée en présence de phosphates. Il en résulte

que le rapport $\frac{Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2}}{Q_{\text{O}_2}}$ est beaucoup plus faible (0,24) en solution de phosphates qu'en solution de bicarbonate (0,61). Ceci permet de supposer que l'oxydation de l'acide lactique en solution de phosphate n'est pas une oxydation totale, mais correspond essentiellement à la formation d'acide pyruvique, la petite quantité de CO_2 produite étant, en grande partie, due à la dégradation ultérieure de l'acide pyruvique.

En tenant compte des relations indiquées précédemment (p. 18) il est possible de calculer approximativement, à partir du CO_2 dégagé en aérobiose, les quantités d'acide pyruvique apparu et d'oxygène utilisé pour sa formation : le quotient d'oxydation du pyruvate étant de 0,80, on voit que l'oxygène absorbé pour l'oxydation de l'acide pyruvique que nous supposons ainsi formé, est égal à $34/0,80$, soit 42 mm^3 ; il reste ainsi $133-42 = 91 \text{ mm}^3$ d'oxygène, qui servent à la transformation d'environ 730γ d'acide lactique en acide pyruvique, par heure et par mg. de bactéries. Finalement, le métabolisme de l'acide lactique, en solution de phosphates, exprimé en γ d'acide lactique disparu, correspond aux valeurs suivantes :

$$F = 113 ; \quad R = 830 ; \quad f = 0$$

valeurs qui mettent en évidence de façon nette le fait qu'il disparaît beaucoup plus d'acide lactique en aérobiose qu'en anaérobiose.

C. — Métabolisme de l'acide pyruvique

Le métabolisme de l'acide pyruvique est illustré par les données des tableaux VI et VII.

TABLEAU VI
MÉTABOLISME DE L'ACIDE PYRUVIQUE EN SOLUTION
DE BICARBONATE

N° de l'expérience	Age des bactéries bactéries	Poids des bactéries mg./5 cc.	Q_{CO_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}/Q_{O_2}$
370208	64	12,15	15	29,8	17,2	1,73
380530	64	14,3	18	25,2	15,4	1,63
380602	64	18	16,5	18,9	11,8	1,6
Moyennes :			16	25	15	1,65

TABLEAU VII
MÉTABOLISME DE L'ACIDE PYRUVIQUE EN SOLUTION
DE PHOSPHATES

N° de l'expérience	Age des bactéries (heures)	Poids des bactéries mg./5 cc.	$Q_{CO_2}^{N_2}$	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}/Q_{O_2}$
380530	64	14,3	11,25	30,6	24,4	1,25
380602	64	18	8,1	23,0	19,5	1,18
390526	47	17,3	10,8	—	22,0	—
				25,6	22,3	1,15
Moyennes :			10	26	22	1,16

Les chiffres du tableau VI montrent que l'intensité moyenne du métabolisme de l'acide pyruvique *en solution de bicarbonate* correspond à :

$$Q_{CO_2}^{CO_2} = 16 ; \quad Q_{CO_2}^{O_2} = 25 ; \quad Q_{O_2} = 15.$$

Le rapport $Q_{CO_2}^{O_2}/Q_{O_2}$ est de 1,65, c'est-à-dire très nettement

supérieur au quotient d'oxydation totale (0,80). Il existe donc, en aérobiose, et parallèle à son oxydation, une fermentation de l'acide pyruvique. L'intensité de ces diverses formes de métabolisme s'exprimant par :

$$F = 97, \quad R = 23, \quad f = 77,$$

on voit que $(R + f)$ est pratiquement égal à F .

Dans le cas des *solutions de phosphates*, les valeurs moyennes du tableau VII :

$$Q_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2} = 10 ; \quad Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} = 26 ; \quad Q_{\text{O}_2} = 22,$$

et celle du rapport $Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} / Q_{\text{O}_2} = 1,16$ donnent lieu à des observations analogues; on en tire :

$$F = 59 ; \quad R = 35 ; \quad f = 47.$$

$R + f$ est ici nettement supérieur à F .

Dans tous les cas le métabolisme aérobie de l'acide pyruvique est supérieur ou au moins égal à son métabolisme anaérobie.

D. — Remarques

L'ensemble des résultats précédents fait ainsi apparaître que, contrairement à ce qui semblait être généralement admis, *Prop. pentosaceum* est capable de présenter un métabolisme respiratoire notable; l'intensité de ce métabolisme en présence de glucose et d'acide lactique ou d'acide pyruvique est donnée ici avec précision pour la première fois. Il n'est pas sans intérêt, d'ailleurs, de comparer cette intensité respiratoire avec les intensités respiratoires moyennes connues de quelques autres organismes ou tissus en nous limitant au seul cas du métabolisme du glucose. En prenant pour base la quantité d'oxygène consommé au cours de l'oxydation de ce sucre en aérobiose (Q_{O_2}), on obtient le classement indiqué par le tableau VIII, dans lequel figurent également les quantités de glucose (F) transformées en anaérobiose. Ce tableau montre que le

métabolisme de *Prop. pentosaceum*, quoique plus faible que celui de certaines levures (levures de boulangerie), est néanmoins tout à fait comparable à celui de cellules comme *Mycoderma* (en présence de glucose) ou de tissus animaux.

TABLEAU VIII

ACTIVITÉS RESPIRATOIRES COMPARÉES DE QUELQUES ORGANISMES
OU TISSUS.

Organisme ou tissu	Q _{O₂} de base	Q _{O₂} en présence de glucose	F	Références
A) En milieu de phosphates				
Azotobacter Vinelandii	—	1800	—	(27)
Torula sp.	24	180	1080	(41)
Levures de boulangerie,...	11	95	1320	(41)
Prop. pentosaceum	8	29	123	
Mycoderma sp.	3	24	68	(41)
Levures de vin.....	—	10	450	(41)
Levures de brasserie.....	6	8	940	(41)
B) En milieu de bicarbonate				
Rein (rat)	—	24	—	(66)
Prop. pentosaceum	4	16	80	
Embryon (rat)	—	14	—	(66)
Sarcome de Jensen	—	13	105	(66)
Testicule (rat).....	—	11	—	(66)
Foie (rat)	—	10	—	(66)

CHAPITRE III

INFLUENCE DU FLUORURE DE SODIUM ET DE L'ACIDE MONOIODACETIQUE SUR LE METABOLISME DE PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM

Comme nous l'avons vu, la fermentation du glucose par les bactéries propioniques comprend deux étapes principales : la première aboutit à la formation de l'acide lactique (dont le rôle comme corps intermédiaire est aujourd'hui bien établi); la deuxième, par une série d'oxydo-réductions successives, aboutit à la transformation de cet acide lactique en acides propionique et acétique. Connaître par quel mécanisme enzymatique s'effectue la réaction, glucose $\longrightarrow$ acide lactique, si communément rencontrée en biologie, savoir en quel point des réactions de dégradation se greffent les phénomènes d'oxydation par respiration, sont autant de questions auxquelles nous essaierons de donner une réponse par l'étude de l'influence du fluorure de sodium et de l'acide monoiodacétique sur le métabolisme de *Prop. pentosaceum* étudié en masse non proliférante en présence de différents substrats.

A. — Influence du fluorure de sodium sur la dégradation anaérobie du glucose, de l'acide lactique et de l'acide pyruvique

Werkmann et ses collaborateurs qui s'attachent depuis plusieurs années à établir les réactions intermédiaires de dégradation anaérobie des hydrates de carbone par les bactéries propioniques, se sont posés l'importante question de savoir si ces dégradations comportaient des phénomènes de phosphoryla-

tion identiques à ceux décrits par Embden, Meyerhof et Parnas au cours de la fermentation lactique du muscle ou de la fermentation alcoolique des levures. Dans une première série d'expériences, ils ont reconnu que les bactéries propioniques, et notamment *Prop. pentosaceum*, placés dans des conditions convenables, d'une part produisent de l'acide phosphoglycérique que l'on peut isoler [60, 61, 62], et d'autre part sont capables de fermenter ce même acide phosphoglycérique introduit dans le milieu [80]. Ils ont ainsi acquis la preuve que les bactéries propioniques peuvent fermenter le glucose en mettant en jeu les réactions de phosphorylation habituelles. Mais, ayant constaté dans une autre série d'expériences, avec *Prop. pentosaceum* en voie de croissance dans un milieu à base d'extrait de levures, que le fluorure de sodium est incapable d'inhiber la fermentation du glucose alors qu'il inhibe celle du phosphoglycérate de soude [73], ces auteurs se sont vus contraints d'admettre que les bactéries propioniques pouvaient aussi fermenter le glucose *par une autre voie* sans mettre en jeu les phénomènes classiques de phosphorylation. On sait, en effet, que le fluorure de sodium est un poison cellulaire connu depuis longtemps pour empêcher la formation de l'acide lactique dans le muscle et la formation d'alcool par les levures, son action inhibitrice sur ces fermentations s'exerçant spécifiquement sur la réaction de transformation de l'acide 2-phosphoglycérique en acide phosphopyruvique [42].

Avant d'accepter des conclusions d'une telle importance, nous avons soigneusement examiné dans quelles conditions opérait Werkman et nous avons remarqué que, dans ses expériences, la fermentation propionique du glucose ne devenait insensible au fluorure qu'après des repiquages successifs des bactéries sur des milieux contenant ce poison. Devant l'impossibilité de savoir, a priori, quelle part revenait à des phénomènes d'adaptation, il nous a paru nécessaire de reprendre l'étude de l'action du fluorure de sodium sur *Prop. pentosaceum* en masses non proliférantes, normales, c'est-à-dire non préalablement accoutumées au fluorure, en solution de bicarbonate ou en solution de phosphates, et en présence de différents substrats.

Les tableaux IX et X montrent l'influence exercée par le fluorure de sodium non seulement dans le cas de la dégradation du glucose et de l'acide phosphoglycérique, mais aussi dans celui de la dégradation des acides lactique et pyruvique.

—L'acide phosphoglycérique est utilisé sous forme de phosphoglycérate de sodium; il correspond à l'acide 3-phosphoglycérique. Il a été préparé au laboratoire selon la technique de Kiessling [29], par R. Safavi, que nous sommes heureux de remercier ici. Le dosage des différentes formes du radical phosphorique éventuellement présentes a montré que le corps en question était pratiquement pur.

TABLEAU IX

INFLUENCE DE Na F SUR LE MÉTABOLISME ANAÉROBIE DU GLUCOSE
ET DE L'ACIDE PHOSPHOGLYCÉRIQUE EN SOLUTION DE BICARBONATE

N° de l'expérience	Age des bactéries (heures)	Poids des bactéries mg./5 cc.	Substratum	Q $\frac{CO_2}{CO_2}$
360622	63	3,75	Glucose + NaF 0,10 M id. 0,05 M id. 0,01 M id. 0,0025 M	22,6 0,0 0,0 0,0 26,4
380613	47	9,3	Glucose + NaF 0,02 M Phosphoglycérate Phosphogl. + Glucose	29,0 0,3 6,1 28,0
381006	47	17,2	Glucose + NaF 0,02 M Phosphoglycérate + NaF 0,02 M Phosphogl. + Glucose + NaF 0,02 M	29,0 0,3 4,9 1,2 33,0 1,0

TABLEAU X

TAMPON PHOSPHATES. AGE DES BACTÉRIES 47 HEURES. VOLUME DE LA SUSPENSION BACTÉRIENNE : AÉROBIOSE 2 CC. ; ANAÉROBIOSE 4 CC.

N° de l'expérience	Poids des bactéries mg./5 cc.	Substratum	$Q_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}$	$Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2}$	Q_{O_2}	$Q_{\text{CO}_2}^{\text{O}_2} / Q_{\text{O}_2}$
390526	17,3	Glucose	6,8	18,0	22,0	0,82
		+ NaF 0,04 M	0,4	10,3	10,8	0,96
		Lactate	12,6	24,2	104	0,23
		+ NaF 0,04 M	0,6	—	105	—
		Pyruvate	11,0	26,0	22,0	1,18
390602	15,2	+ NaF 0,04 M	6,0	23,0	15,0	1,53
		Glucose	5,4	15,0	18,0	0,83
		+ NaF 0,02 M	0,2	18,0	19,0	0,95
		Lactate	10,0	18,0	72	0,25
		+ NaF 0,02 M	0,6	20,0	76	0,26
390608	16,0	Pyruvate	7,6	21,0	20,0	1,05
		+ NaF 0,02 M	6,0	21,0	20,0	1,05
		Glucose	7,0	19,4	21,5	0,90
		+ NaF 0,08 M	—	6,3	6,9	0,91
		+ NaF 0,04 M	—	19,3	18,9	1,02
		+ NaF 0,02 M	0,5	25,3	24,5	1,03
		+ NaF 0,01 M	0,5	23,7	23,5	1,01

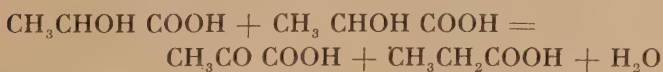
Les conclusions qui peuvent être tirées de nos expériences sont les suivantes :

1° Le métabolisme anaérobie du glucose et de l'acide phosphoglycérique est complètement inhibé par le fluorure pour des concentrations égales ou supérieures à 0,01 M aussi bien en milieu tampon phosphates qu'en milieu tampon bicarbonate. Il n'existe ainsi actuellement plus aucune raison de penser que les bactéries normales fermentent le glucose par un mécanisme autre que celui utilisant l'acide phosphoglycérique comme intermédiaire. Les résultats contraires à l'hypothèse d'un mécanisme de phosphorylation, obtenus par les auteurs américains, peuvent s'expliquer, comme nous avons déjà eu l'occasion de le faire remarquer [5], par l'accoutumance préalable des bactéries au fluorure. Wiggert et Werkman [74] d'ailleurs, viennent de confirmer notre manière de voir, en montrant qu'il est parfaitement possible, par accoutumance de *Prop. pentosaceum* au fluorure de sodium, d'obtenir un type

de cellules chez lesquelles le fluorure inhibe la fermentation du phosphoglycérate de sodium sans toucher à la fermentation du glucose, alors que chez les cellules normales, le fluorure arrête aussi bien la fermentation du glucose que celle de l'acide phosphoglycérique.

2° A propos du métabolisme de l'acide phosphoglycérique, il convient de remarquer que le dégagement de CO_2 en l'absence de fluorure est faible (surtout si on le compare à celui qui se manifeste dans les mêmes conditions en présence de pyruvate de sodium), et peu supérieur à celui qui accompagne le métabolisme de base des bactéries. Les organismes utilisés ici ne présentent donc qu'une aptitude très réduite à fermenter le phosphoglycérate introduit dans le milieu. Une telle observation a déjà été faite par Wiggert et Werkman [74] qui signalent n'avoir pas toujours réussi à obtenir une fermentation convenable de l'acide phosphoglycérique par *Prop. pentosaceum* à l'état non proliférant. Cette résistance du phosphoglycérate à la fermentation par *Prop. pentosaceum* ne prouve pas que cet ester ne soit pas un corps intermédiaire dans la fermentation du glucose : la complexité du rôle qu'il peut jouer, ou même, plus simplement, des questions de perméabilité cellulaire, peuvent expliquer une inertie qui n'est peut-être qu'apparente.

3° Le métabolisme anaérobie de l'acide lactique est totalement inhibé par le fluorure à des concentrations égales ou supérieures à 0,02 M. Cette inhibition est évidemment tout à fait indépendante de celle de la dégradation anaérobie du glucose : il s'agit là d'une *nouvelle réaction sensible au fluorure*, dont on peut d'ailleurs préciser le siège. En effet, l'action du fluorure ne peut s'exercer que sur une réaction qui ne soit pas commune aux acides lactique et pyruvique, puisque le métabolisme anaérobie de l'acide pyruvique est très peu sensible au fluorure (inhibition de 20 % pour NaF 0,02 M et inhibition de 50 % pour NaF 0,04 M). Il en résulte que c'est la réduction de l'acide lactique en acide propionique par l'acide lactique :



qui paraît être en cause.

B. — Influence de l'acide monoiodacétique et de l'acide malonique sur la dégradation anaérobie du glucose

L'acide monoiodacétique exerce sur la glycolyse une action relativement spécifique tout à fait différente de celle des fluorures. Il a la propriété d'empêcher la fermentation lactique du muscle (Schwarz et Oschmann) [57] et la fermentation alcoolique de la levure (Lundsgaard) [40]. D'après les travaux de Dickens [8] et de Rapkine [50, 51], l'action de l'acide monoiodacétique porte sur les groupements -SH des protéines suivant la réaction :



(Le thio-éther formé a été isolé et caractérisé par Dickens dans le cas simple où la réaction a lieu entre la cystéine et l'acide monoiodacétique).

L'inactivation de plusieurs déshydrases [52] et en particulier de la triosephosphatedéshydrase (Rapkine) [53] par l'acide monoiodacétique, précise le siège de l'inhibition exercée par ce poison au cours de la glycolyse.

L'importance du rôle joué par les groupements -SH dans le métabolisme des bactéries propioniques (longuement expliqué dans le chapitre suivant), nous a incités à examiner de quelle façon réagissait le métabolisme de ces bactéries en présence de l'acide monoiodacétique. Nos essais avec l'acide malonique n'ont été réalisés qu'en vue de retrouver un effet antagoniste de l'acide iodacétique observé par Rapkine.

L'ordre dans lequel sont introduits les réactifs au cours de ces expériences, n'est pas indifférent, car d'une part la réaction entre le système fermentaire sensible et l'acide monoiodacétique n'est pas instantanée, et d'autre part le glucose peut exercer vis-à-vis des protéines fermentaires une certaine action protectrice. Aussi dans les tableaux qui suivent les conditions expérimentales sont-elles données de façon plus détaillée que d'habitude. Nous désignons par :

Gluc. la solution de glucose,
 Phos. la solution tampon de phosphates,
 AIA la solution d'acide monoiodacétique (B.D.H.),
 Bact. la suspension bactérienne,
 Mal. la solution de malonate de sodium, (Prolabo),
 les concentrations de ces solutions étant telles que la concentration finale après mélange de chacune de ces substances soit celle que nous avons indiquée précédemment.

TABLEAU XI

EXPÉRIENCE 390308

Influence de l'acide monoiodacétique sur la *dégradation anaérobie du glucose* en solution de phosphates.
 Age des bactéries : 39 heures. Poids des bactéries par 5 cc. : 13,4 mg. Concentration finale de l'acide monoiodacétique : 4.10^{-4} M.

N° des réipients	1	2	3	4	5	6
Contenu : réipient principal :	0,4 cc. Gluc. 3,2 cc. Phos. 0,4 cc. Bact.		0,4 cc. AIA 2,8 cc. Phos. 0,4 cc. Bact.		0,4 cc. Gluc. 2,8 cc. Phos. 0,4 cc. Bact.	
ampoule latérale :	néant		0,4 cc. Gluc.		0,4 cc. AIA	
	$\begin{matrix} N_2 \\ Q \\ CO_2 \end{matrix}$					
Avant retournement : (90 minutes)	10,7	10,7	0,8	0,5	10,6	10,9
Après retournement : temps en minutes						
0-5	10,7	10,7	0	0	7,8	8,5
5-15	10,7	10,7	0	0	2,0	2,1
15-25	10,6	10,0	0	0	2,6	2,1
25-60	10,6	9,4	0	0	0,6	0,4

TABLEAU XII

EXPÉRIENCE 390313

Influence de l'acide monoiodacétique et de l'acide malonique
sur la dégradation anaérobie du glucose en solution
de phosphates.

Age des bactéries : 39 heures. Poids des bactéries par 5 cc. :

9,1 mg. Concentration finale de l'acide monoiodacétique :

4.10^{-4} M. Concentration finale de l'acide malonique : 0,05 M.

N° des récipients	1	2	3	4	5	6
Contenu (cc.)						
Récipient principal						
Phos.	3,6	2,8	3,2	3,2	2,8	2,4
Bact.	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Gluc.	—	—	—	—	0,4	0,4
AIA.	—	0,4	—	—	—	0,4
Mal.	—	—	—	—	—	—
Ampoule latérale						
Mal.	—	0,4	—	0,4	0,4	0,4
Gluc.	—	—	0,4	—	—	—
	$Q \begin{matrix} N_2 \\ CO_2 \end{matrix}$					
Avant retournement :	0,6	0,8	0	0,8	11,5	0,8
Après retournement :	0,6	0,8	10,7	0,8	12,5	0,8

TABLEAU XIII

EXPÉRIENCE 390317

Influence de l'acide monoiodacétique sur la dégradation anaérobie du glucose en solution de bicarbonate.

Age des bactéries : 64 heures. Poids des bactéries par 5 cc : 17 mg. Concentration finale de l'acide monoiodacétique : $4 \cdot 10^{-4}$ M.

N° des réipients	1	2	3	4
Contenu (cc.)				
Réipient principal				
Bic.	3,6	3,4	3,2	3,0
Bact.	0,4	0,4	0,4	0,4
Gluc.	—	—	—	0,4
Ampoule latérale				
AIA.	—	0,2	—	0,2
Gluc.	—	—	0,4	—
	$Q \begin{matrix} \text{CO}_2 \\ \text{CO}_2 \end{matrix}$			
Avant retournement	4,4	4,9	4,3	24,3
Après retournement	4,3	4,4	27,8	2,6

Les résultats des expériences faites en anaérobiose en présence d'acide monoiodacétique sont donnés dans les tableaux XI, XII et XIII. Ils montrent qu'une concentration de $4 \cdot 10^{-4}$ M en acide monoiodacétique suffit à inhiber presque totalement la fermentation du glucose. Cet effet n'est pas immédiat et ne se manifeste dans toute sa plénitude que 25 minutes environ après addition du réactif dans le milieu. Une telle inhibition indique vraisemblablement la présence de la triosephosphate-déshydrase [43] et apporte ainsi une nouvelle présomption en faveur de la validité du schéma classique de Meyerhof, pour la fermentation du glucose par *Prop. pentosaceum*. Elle constitue également un argument en faveur de l'hypothèse que nous discuterons ultérieurement, d'après laquelle l'Effet Pasteur est dû

à l'oxydation de l'un des systèmes fermentaires impliqués dans la dégradation anaérobie du glucose en corps en C_3 , ce système sensible à l'oxydation pouvant être ainsi la triosephosphate-déshydrase qui possède des groupements -SH oxydables.

**C. — Influence du fluorure de sodium sur le métabolisme
aérobie de Prop. pentosaceum (Tableau X)**

En présence de glucose, seules des concentrations élevées en fluorure de sodium (dépassant 0,04 M) exercent une action inhibitrice sur la respiration en même temps qu'une légère modification du rapport $Q_{\frac{O_2}{CO_2}} / Q_{O_2}$ qui passe de 0,9 à 1 (tableaux IX et X).

En présence d'acide lactique ou d'acide pyruvique, la respiration est pratiquement indifférente au fluorure de sodium (0,02 M ou 0,04 M).

Le fait qu'en présence d'une concentration bien définie en fluorure, 0,02 M par exemple, la fermentation anaérobie du glucose est totalement inhibée alors que son métabolisme aérobie reste intact, montre que la respiration des organismes utilisés porte soit directement sur le glucose lui-même, soit sur des substances qui, dans la suite des réactions entre le glucose et les produits finaux de sa fermentation, sont situées avant l'acide phosphopyruvique.

**D. — Influence de l'acide monoiodacétique
sur le métabolisme aérobie de Prop. pentosaceum**

Cette étude est faite en présence de glucose (tableaux XIV, XV, XVI et XVII) et d'acide lactique.

TABLEAU XIV

EXPÉRIENCE 390308

Influence de l'acide monoiodacétique sur la *dégradation aérobie*
du *glucose* en solution de phosphates

Age des bactéries : 39 heures. Poids des bactéries par 5 cc. :
13,4 mg. Concentration finale de l'acide monoiodacétique :
 $4 \cdot 10^{-4}$ M.

Tous les récipients ont un réservoir central renfermant
0,3 cc. KOH 5 %.

N° des récipients	1	2	3	4	5	6
Contenu :						
Récipient principal :	0,2 cc. 1,6 cc. 0,2 cc.	Gluc. Phos. Bact.	1,4 cc. 0,2 cc. 0,2 cc.	Phos. AIA Bact.	1,4 cc. 0,2 cc. 0,2 cc.	Phos. Gluc. Bact.
Ampoule latérale :	néant		0,2 cc.	Gluc.	0,2 cc.	AIA
	Q _{O₂}					
Avant retournement (90 minutes)	24,4	24,4	9,9	9,4	24,4	24,9
Après retournement temps en minutes						
0-30	24,4	24,4	13,8	13,8	20,0	20,4
30-100	24,4	24,4	13,8	13,8	16,9	17,2

TABLEAU XV

EXPÉRIENCE 390313

Influence de l'acide monoiodacétique et de l'acide malonique sur la *dégradation aérobie* du *glucose* en solution de phosphates.

Age des bactéries : 39 heures. Poids des bactéries par 5 cc. :

9,1 mg. Concentration finale de l'acide monoiodacétique :

$4 \cdot 10^{-4}$ M. Concentration finale de l'acide malonique : 0,05 M.

Tous les réipients ont un réservoir central contenant 0,3 cc. de KOH 5 %.

N° des réipients	1	2	3	4	5	6
Contenu (cc.)						
Réipient principal :						
Phos.	1,8	1,6	1,6	1,4	1,4	1,2
Bact.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Gluc.	—	—	—	—	—	0,2
AIA.	—	—	—	0,2	—	0,2
Mal.	—	—	—	—	0,2	—
Ampoule latérale :						
Gluc.	—	—	0,2	0,2	0,2	—
AIA.	—	0,2	—	—	—	—
Mal.	—	—	—	—	—	0,2
	Q_{O_2}					
Avant retournement :	8,8	8,0	8,7	9,9	9,9	14,8
Après retournement :	6,4	6,0	28,7	13,8	33,5	15,0

TABLEAU XVI

EXPÉRIENCE 390317

Influence de l'acide monoiodacétique sur la *dégradation aérobie*
du *glucose* en solution de bicarbonate.

Age des bactéries : 64 heures. Poids des bactéries par 5 cc. :
17 mg. Concentration finale de l'acide monoiodacétique :
 4.10^{-4} M.

N° des récipients	1	1'	2	2'	3	3'	4	4'
Contenu (cc.)								
récipient principal :								
Bic.	5,4	1,8	5,1	1,7	4,8	1,6	4,5	1,5
Bact.	0,6	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2
Gluc.	—	—	—	—	—	—	0,6	0,2
Ampoule latérale.								
AIA.	—	—	0,3	0,1	—	—	0,3	0,1
Gluc.	—	—	—	—	0,6	0,2	—	—
	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$
Avant retournement :	4,4	5	4,5	5	6,8	8,3	14,2	18,3
Après retournement :								
temps en minutes								
0-20	4,4	5	8	9	13,2	23,8	18,6	16,5
20-100	4,4	5	8	9	13,2	23,8	8,4	8

TABLEAU XVII
EXPÉRIENCE 390322

Influence de l'acide monoiodacétique sur la *dégradation aérobie*
du *glucose* en solution de bicarbonate.

Age des bactéries : 47 heures. Poids des bactéries par 5 cc. :
14,7 mg. Concentration finale de l'acide monoiodacétique :
 4.10^{-4} M.

N° des récipients	1	1'	2	2'	3	3'
Contenu (cc.)						
Récipient principal :						
Bic.	4,8	1,6	4,5	1,5	4,5	1,5
Bact.	0,6	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2
Gluc.	—	—	—	—	0,6	0,2
AIA.	—	—	0,3	0,1	—	—
Ampoule latérale :						
Gluc.	0,6	0,2	0,6	0,2	—	—
AIA.	—	—	—	—	0,3	0,1
	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$
Avant retournement :	1,6	0,8	2,3	1,3	9,7	11,4
Après retournement :						
temps en minutes :						
0-30	12,5	15,8	8,7	9,3	20,6	20,8
30-90	12,5	15,8	8,7	9,3	9,1	7,5

L'acide moniodacétique même à une concentration de 0,001 M est sans action sur la dégradation aérobie de l'acide lactique.

A une concentration de $4 \cdot 10^{-4}$ M, il ne ralentit que faiblement l'oxydation du glucose. Ce ralentissement est un peu plus marqué lorsque préalablement à l'introduction du glucose, on laisse les organismes quelque temps en contact avec les réactifs, mais durant cette période d'incubation qui atteint une vingtaine de minutes, l'acide moniodacétique semble exercer une action légèrement accélératrice.

La fermentation qui subsiste normalement en aérobiose et qui se manifeste surtout dans les solutions de bicarbonate, est supprimée par l'acide moniodacétique.

Cet ensemble de faits met là encore en évidence que la respiration des bactéries propioniques en présence de glucose, correspond à l'oxydation de substances qui, dans la suite des réactions de fermentation de ce sucre, sont situées avant l'acide phosphoglycérique.

Nos essais avec l'acide malonique montrent que cet acide est sans influence sur la fermentation du glucose, sur l'inhibition de cette fermentation par l'acide moniodacétique et sur l'oxydation du glucose. Il en résulte entre autres choses que cette oxydation se fait, dans le cas des bactéries propioniques, en dehors de toute participation de la succinodéshydrase. Il en résulte aussi que les bactéries propioniques se comportent ici autrement que les levures chez lesquelles, d'après une communication personnelle de L. Rapkine, l'acide malonique supprime l'inhibition de la fermentation par l'acide moniodacétique.

CHAPITRE IV

ACTION DU GROUPE -SH SUR LE METABOLISME DE *PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM*

Une série d'expériences faites en utilisant des suspensions bactériennes diluées (petites masses) de *Prop. pentosaceum*, nous ont antérieurement [4], permis de mettre en évidence une inhibition de la fermentation du glucose que nous avons attribuée à la présence de traces d'oxygène dans l'atmosphère de gaz carbonique surmontant les suspensions bactériennes en question. Cette inhibition avait pour caractère d'être réversible, et était aussi bien supprimée par action d'un système naturel extrait des cellules (système X = jus de macération de grosses masses de *Prop. pentosaceum* placées dans un mélange tampon de bicarbonate + CO_2 ; pH 6,4; température 29°, pendant 30 minutes), que par action de substances à fonction -SH: cystéine, glutathion, acide thioglycolique, acide thiolactique, cystine « traitée » ou même hydrogène sulfuré.

De telles observations sont à l'origine de l'étude, rapportée ici, de l'influence exercée par les groupements -SH sur le métabolisme de *Prop. pentosaceum* en masses quelconques non proliférantes. Cette étude constitue le véritable centre de ce travail.

Il devenait en effet indispensable, à la suite des recherches préliminaires que nous venons de mentionner, de définir le mode d'action de ces substances sulfurées et en particulier de savoir si elles intervenaient, sous leur forme la plus simple (H_2S), suivant les données classiques, comme inhibiteurs de la respiration.

Les résultats obtenus remettent en cause la spécificité d'inhi-

bition du ferment respiratoire de Warburg par H_2S , et apportent le premier exemple connu d'inhibition de l'Effet Pasteur par H_2S .

Au cours du présent chapitre, est étudiée l'influence de la cystine « traitée », de la cystéine ou de l'hydrogène sulfuré sur la fermentation en anaérobiose, sur la fermentation en aérobiose et sur la respiration de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose, ou d'acide lactique, ou d'acide pyruvique, les organismes étant maintenus en suspension à pH 6,4 soit dans des solutions de bicarbonate soit dans des solutions de phosphates.

Quelques expériences ont été faites à titre de comparaison avec une autre espèce de bactéries propioniques : *Prop. Zeae*.

Nous mentionnons enfin quelques tentatives de lavages prolongés des bactéries, essayés dans le but de les débarrasser complètement du système X et d'obtenir éventuellement une inactivation des grosses masses bactériennes les rendant susceptibles de se comporter de la même façon que les masses bactériennes diluées.

A. — Action du groupe SH sur le métabolisme du glucose. Suppression de l'effet Pasteur

La plupart des expériences sont faites avec *Prop. pentosaceum* et quelques autres avec *Prop. Zeae*.

1° INFLUENCE DE LA CYSTINE « TRAITÉE »

Nos premières expériences réalisées avec les bactéries en petites masses nous ont tout d'abord montré une identité d'action de la cystine et de la cystéine. Mais une étude plus approfondie de nos conditions expérimentales nous a rapidement permis de constater que la cystine n'était active, au même titre que la cystéine, qu'après avoir été maintenue pendant deux heures environ, à la température ordinaire, en présence d'une solution de glucose 0,5 %; NaCl 0,9 %; CO_3NaH 0,16 % à pH = 8,2 (pH de la solution saline abandonnée à l'air avant le passage de CO_2). Il est fort probable que cette activation de

la cystine est due à la formation d'une fonction -SH sous l'action réductrice du glucose en milieu alcalin, sans que l'on puisse dire s'il s'agit seulement de production de cystéine, ou s'il apparaît dans le milieu un peu de H_2S . De toute façon, la concentration du groupe -SH éventuellement formé est trop faible pour que celui-ci puisse être facilement caractérisé par le nitroprussiate.

Nous avons essayé de mettre en évidence la réaction éventuelle entre le glucose et la cystine, en présence de CO_3NaH à 0,16 %, à pH 8,4 et à la température ordinaire. Le fort pouvoir rotatoire de la cystine, un peu soluble dans ces conditions, et celui du glucose, nous avaient fait espérer qu'une modification dans le pouvoir rotatoire d'une solution contenant ces deux corps en mélange, se manifesterait au bout de quelque temps. En fait, nous n'avons pu observer, même après 12 heures, aucune modification du pouvoir rotatoire du mélange cystine + glucose, dans les conditions mêmes où la cystine acquiert son activité physiologique.

Malgré cette incertitude de ce qui se passe entre la cystine et le glucose, l'utilisation d'une solution de *cystine ainsi traitée* est avantageuse, en ce sens que, ramenée à pH 6,4 par la présence de CO_2 gazeux, cette solution n'absorbe pratiquement pas d'oxygène lorsqu'on l'agite au contact de ce gaz, ce qui évite les erreurs à craindre à ce point de vue dans les mesures de consommation d'oxygène.

L'influence de la cystine « traitée » sur le métabolisme de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose est étudié de la façon suivante : 32 mg. de l-cystine sont mis en suspension dans 25 cc. d'une solution de NaCl à 0,9 %, additionnée de 2 cc. d'une solution de glucose à 10 % dans NaCl à 0,9 % et de 5 cc. d'une solution de CO_3NaH 1,3 %, à pH 8,4; le tout est abandonné deux heures à la température ordinaire. Au bout de ce temps, 4 cc. de ce mélange sont placés dans une cellule de l'appareil de Warburg, puis saturés de CO_2 ; on introduit ensuite 1 cc. de la suspension bactérienne mère dans une solution de NaCl à 0,9 % et le tout est saturé pendant encore 4 minutes avec du CO_2 pur. L'appareil est alors prêt pour les me-

sures en anaérobiose. Les mesures en aérobiose sont préparées de façon analogue, en prenant des quantités de réactifs et de bactéries proportionnelles aux précédentes, de telle sorte que les volumes finaux en suspensions bactériennes soient respectivement de 2 et de 6 cc., les gaz surmontant les solutions étant alors le mélange 50 % CO₂ + 50 % O₂.

Les vitesses des réactions correspondant respectivement à la fermentation et à la respiration, sont constantes au cours des mesures. Ce sont ces vitesses que donnent les tableaux XVIII et XIX.

TABLEAU XVIII

INFLUENCE DE LA CYSTINE TRAITÉE

Concentration en cystine traitée : 4 mg. pour 5 cc. de suspension bactérienne.

N° de l'expérience	Poids des bactéries mg./5 cc.	F		f		R	
		Témoin	+ cystine traitée	Témoin	+ cystine traitée	Témoin	+ cystine traitée
371122	6,9	87	—	18	27	18	32
380225	11,6	77	83	21	40	20	27
380328	13,7	77	100	11	55	17	28
350502	18,1	64	68	10	45	16	29
Moyennes ..		76	84	15	42	18	29

2° INFLUENCE DE LA CYSTÉINE

La cystéine est utilisée sous forme de chlorhydrate de l-cystéine soigneusement neutralisée avant son emploi, cette neutralisation étant faite à l'abri de l'air pour éviter toute oxydation.

Contrairement à ce qui se passe avec la cystine traitée par le glucose en milieu alcalin, la cystéine agitée en solution saline glucosée et en l'absence de bactéries, à pH 6,4 dans les cellules de l'appareil de Warburg en atmosphère contenant de l'oxygène, s'oxyde notablement. Cette oxydation est due comme on le sait (Sakuma) [56] aux traces de fer ou de cuivre qui accompagnent toujours la cystéine non spécialement purifiée et telle que nous l'employons ici.

TABLEAU XIX

Comparaison entre l'influence exercée par la cystéine, par la cystine et par la cystine « traitée » sur le métabolisme anaérobie et aérobie du glucose en mélange tampon bicarbonate chez *Prop. pentosaceum* et chez *Prop. Zeae*.

N° de l'expérience	Poids des bactéries mg./5 cc.	Substance ajoutée Conc. mol./litre.	$Q_{CO_2}^{CO_2}$	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2} / Q_{O_2}$
380325	Prop. Zeae 10,7	0	21,6	11,4	12,9	0
		l-Cystéine $0,6.10^{-2}$	30,2	46,0	25,3	20,7
		l-Cystine $0,3.10^{-2}$	21,8	21,0	19,6	1,4
		Cystine « traitée »	30,0	30,7	16,0	14,7
380328	Prop. pent. 13,7	0	24,0	16,1	12,6	3,5
		l-Cystéine $0,6.10^{-2}$	32,7	56,1	33,6	22,5
		l-Cystine $0,3.10^{-2}$	23,7	29,7	21,8	7,9
		Cystine « traitée »	31,4	38,1	20,9	17,2
	Prop. pent. 8,8	0	—	22,7	16,3	6,4
		l-Cystéine $1,4.10^{-2}$	—	36,2	23,9	12,3
		l-Cysine $0,8.10^{-2}$	—	23,3	16,8	6,5

Sa vitesse initiale est sensiblement proportionnelle à la concentration de la cystéine et telle que 1 mg. de $CH_2 SH CHNH_2 COOH$ absorbe 2,9 mg. d'oxygène au cours des dix premières minutes, soit une valeur de $Q_{O_2} = 17$ tout à fait du même ordre que celles ($Q_{O_2} = 12$ à 21) obtenues par Sakuma avec la cystéine ordinaire. La cystéine rigoureusement exempte de fer et de cuivre ne s'oxyde pratiquement pas ($Q_{O_2} = 1$). Lors-

que la cystéine non purifiée est agitée dans les mêmes conditions en présence de bactéries, l'action réductrice de ces organismes au contact du glucose, empêche peut-être son oxydation d'avoir lieu, mais nous n'en avons aucune épreuve. En vue d'écarter de telles causes d'erreurs de nos résultats, nos expériences sur l'influence de la cystéine ont été réalisées non seulement avec des concentrations relativement élevées de ce dérivé thiol, mais aussi avec des concentrations suffisamment faibles ($8,2.10^{-6}$ Molécules et de 2.10^{-6} Molécules par 5 cc. de

suspension bactérienne) pour qu'une oxydation éventuelle de la cystéine ne joue plus aucun rôle dans les mesures faites en aérobiose. En réalité, la constance de la pente des courbes obtenues expérimentalement avec les bactéries en aérobiose, en présence même des plus fortes concentrations en cystéine ($3,3 \cdot 10^{-5}$ molécules par 5 cc.), courbes représentant la résultante des échanges gazeux en fonction du temps, montre que l'oxydation de la cystéine du milieu ne se manifeste pas de façon sensible. Il semble ainsi fort probable que l'oxydation de la cystéine elle-même n'a pas lieu en présence de bactéries. Cette dernière conclusion est d'ailleurs corroborée par le fait qu'il se produit au cours des expériences, même en aérobiose, une certaine quantité de H_2S facilement décelable par son odeur.

La solution neutralisée de cystéine est soit ajoutée directement dès le début de l'expérience à la suspension bactérienne mise en présence du métabolite étudié dans le réservoir principal des cellules de l'appareil de Warburg, soit placée dans une ampoule latérale avant d'être vidée par basculement dans le réservoir principal contenant bactéries et substrat. Dans ce dernier cas, les lectures des dénivellations manométriques faites avant l'introduction de la cystéine donnent la valeur du métabolisme en présence de cystéine (voir notamment l'expérience 380.509, fig. 1).

Les mesures du métabolisme aérobie, aussi bien en solution de phosphates qu'en solution de bicarbonate, ne sont effectuées qu'à l'aide de la méthode dite des doubles manomètres; la méthode à la potasse est à rejeter dans ce cas, car l'action de la cystéine, comme nous le verrons plus loin (p. 65), s'exerce fort probablement par l'intermédiaire de l'hydrogène sulfuré qui se dégage par suite d'une action enzymatique des bactéries propioniques sur la cystéine en présence de glucose; il est alors évident que si le réservoir de l'appareil de Warburg est muni d'une ampoule centrale contenant de la potasse capable de fixer le CO_2 , ce réactif fixera également l'hydrogène sulfuré au fur et à mesure de sa production et que l'effet de ce dernier corps, donc finalement celui de la cystéine, ne pourra plus se manifester.

TABLEAU XX.

INFLUENCE DE LA CYSTÉINE SUR LE MÉTABOLISME ANAÉROBIE ET AÉROBIE DU GLUCOSE PAR PROP. PENTOSACEUM.

N° de l'expérience	Poids des bactéries en mg/5 cc.	Concentration en cystéine mol/litre	Q _{CO₂}		Q _{O₂}		F.		f		R	
			Témoin	+ cystéine	Témoin	+ cystéine	Témoin	+ cystéine	Témoin	+ cystéine	Témoin	+ cystéine
A. En solution de bicarbonate												
370121	8,8	1,4 · 10 ⁻³	—	—	22,7	36,2	16,3	23,9	—	—	21	40
370308	12,5	1,6 · 10 ⁻³	—	—	22,3	23,5	17,2	15,9	—	—	16	24
380328	13,7	6,6 · 10 ⁻³	24,0	32,7	16,1	56,1	12,6	33,6	77	150	23	72
380331	17,1	6,6 · 10 ⁻³	17,3	31,2	21,2	43,0	16,5	22,0	56	100	17	68
380331	17,1	1,6 · 10 ⁻³	17,3	26,7	21,2	55,0	16,5	31,8	56	87	22	75
380331	17,1	0,4 · 10 ⁻³	17,3	22,7	21,2	30,8	16,5	16,8	56	73	22	45
380505	18,4	6,6 · 10 ⁻³	19,2	23,8	16,0	50,5	15,1	30,3	62	77	16	65
380509	17,7	0,4 · 10 ⁻³	17,5	22,0	17,0	39,0	14,5	24,3	56	78	22	47
380516	9,6	0,4 · 10 ⁻³	25,0	33,7	25,0	52,5	18,0	28,3	80	108	16	78
381103	12,6	0,4 · 10 ⁻³	29,4	—	18,5	43,5	14,5	24,2	94	—	24	54
390510	14,2	0,4 · 10 ⁻³	—	—	24,0	37,7	17,5	23,0	—	—	23	—
Moyennes :			21	28	20	43	16	25	67	90	15	57
B. En solution de phosphates.												
381103	12,6	0,4 · 10 ⁻³	—	—	—	43,5	—	40,0	—	—	—	—
381010	13,2	0,4 · 10 ⁻³	—	—	24,8	37,6	30,3	37,0	—	—	—	—

Les résultats de nos expériences sur l'influence de la cystéine sur le métabolisme aérobie et anaérobie du glucose par *Prop. pentosaceum* sont donnés dans le tableau XX.

La figure 1 montre le détail de l'expérience 380.509, dans laquelle les mesures ont été effectuées avec les mêmes manomètres, au cours de la même expérience, avant et après introduction de la cystéine mise en réserve dans une ampoule latérale; le changement d'allure des courbes, dès l'introduction du dérivé thiol, est frappant.

Il est à remarquer que, dans cette expérience, les concentrations réelles en cystéine sont probablement inférieures aux concentrations théoriques prévues, car une fraction des groupes -SH a pu s'oxyder (sans que cette oxydation ait pu influencer les manomètres) pendant le temps qui s'est écoulé avant le renversement de la solution de cystéine dans la suspension bactérienne.

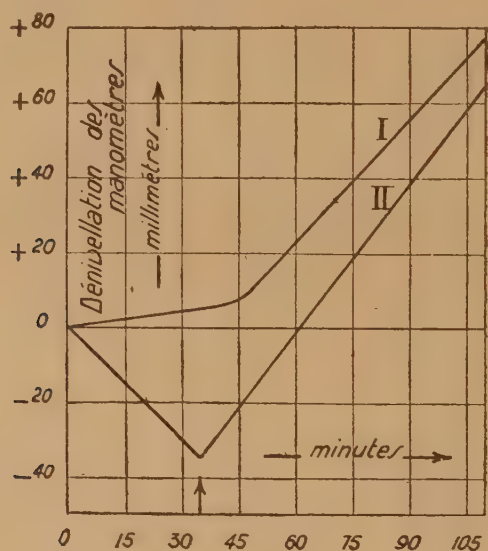


FIGURE 1. — Détail de l'expérience 380.509; la courbe I correspond à l'introduction de $8,3 \cdot 10^{-7}$ molécules de cystéine dans 2 cc. de la suspension bactérienne, et la courbe II, de $2,5 \cdot 10^{-5}$ molécules de cystéine dans 6 cc. de cette même suspension. Les constantes des manomètres sont les suivantes :

Courbe I	$k_{CO_2} = 1,429$	$k_O = 1,297$
Courbe II	$k_{CO_2} = 1,245$	$k_{O_2} = 0,854$

L'introduction de la cystéine a lieu au temps indiqué par la flèche.

3° INFLUENCE DE H₂S.

Pour étudier l'influence de H₂S sur la fermentation et la respiration de *Prop. pentosaceum*, nous avons introduit dans les récipients en expérience des quantités de Na₂S telles que les concentrations de H₂S libéré dans la suspension bactérienne légèrement acide (pH = 6,4), soient celles indiquées dans le tableau XXI. Ces quantités sont calculées selon la méthode de Négelein [44] en tenant compte de la tension de vapeur de H₂S dans les conditions expérimentales (température et acidité) réalisées, de la façon suivante :

Le sulfure de sodium (sulfure de sodium cristallisé Merck : Na₂S, 9 H₂O, dissous dans de l'eau distillée préalablement privée de CO₂ par ébullition) introduit dans le liquide en expérience à pH 6,4 donne naissance à H₂S libre dont une partie reste dissoute, alors qu'une autre partie se dégage dans l'atmosphère surmontant la solution. L'équilibre entre H₂S total et H₂S dissous correspond à l'équation :

$$\frac{\text{H}_2\text{S gazeux} + \text{H}_2\text{S dissous}}{\text{H}_2\text{S dissous}} = \frac{V_G \frac{273}{T} + V_F \alpha}{V_F \alpha}$$

équation dans laquelle :

α = coefficient d'absorption de Bunsen; ce coefficient est ici (29°) égal à 2,08.

V_G = volume de l'atmosphère gazeuse surmontant la solution.

V_F = volume du liquide.

T = température absolue.

Il en résulte que pour avoir dans le liquide en expérience une concentration en H₂S de c molécules par litre, il faut introduire dans un récipient donné de l'appareil de Warburg un nombre n de molécules de Na₂S égal à :

$$n = c \cdot 10^{-3} \frac{V_G \frac{273}{T} + V_F \alpha}{\alpha}$$

Comme dans le cas des mesures faites en présence de cystéine, et pour les mêmes raisons, l'étude du métabolisme aérobie en présence de H_2S est toujours faite en utilisant la méthode des doubles manomètres, à l'exclusion de la méthode à la potasse.

L'introduction du sulfure de sodium dans les récipients de l'appareil de Warburg demande quelques précautions. si le mélange gazeux constituant l'atmosphère surmontant la solution en expérience contient du gaz carbonique, on commence par saturer la suspension bactérienne contenue dans le réservoir principal de la cellule par le mélange gazeux approprié, puis on place la quantité calculée de Na_2S en solution aqueuse dans l'ampoule latérale de la cellule. Le bouchon surmontant cette ampoule latérale est immédiatement remis en place, et la communication entre la bouteille contenant le mélange gazeux et la cellule de l'appareil de Warburg est interrompue par fermeture du robinet à trois voies qui se trouve à la partie supérieure du manomètre; on observe alors une dénivellation du liquide manométrique, qui correspond à la réaction de CO_2 sur Na_2S . Au bout de deux à trois minutes, cette dénivellation se stabilise; la communication entre la bouteille de gaz et le manomètre est alors rétablie et maintenue jusqu'à compensation parfaite de la dénivellation. A ce moment le système est prêt à être introduit dans le thermostat. Dans le cas où le mélange gazeux ne contient pas de gaz carbonique, (azote pur), une partie de ces précautions devient inutile. On se contente d'introduire la quantité calculée de Na_2S dans l'ampoule latérale après que la saturation du milieu par le mélange gazeux approprié est terminée.

De toute façon les quantités de H_2S utilisées ici sont trop faibles pour qu'une oxydation propre éventuelle de ce gaz puisse gêner en quoi que ce soit les mesures en anaérobiose. Les résultats de nos expériences relatives à l'influence de H_2S sur le métabolisme de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose, sont donnés dans le tableau XXI.

TABLEAU XXI

INFLUENCE DE H_2S SUR LE MÉTABOLISME ANAÉROBIE ET AÉROBIE DU GLUCOSE PAR PROP. PENTOSACEUM.

N° de l'expérience	Poids des bactéries en mg/5 cc.	Concentration en H_2S Mol/litre	Q_{CO_2} ou $Q_{CO_2}^{N_2}$		Q_{CO_2}		Q_{O_2}		F		f		R	
			Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S
A. En solution de bicarbonate														
380512	8,1	$0,4 \cdot 10^{-3}$	27,2	24,0	22,8	34,8	15,2	20,8	87	77	24	45	20	28
380516	9,6	$0,4 \cdot 10^{-3}$	25,0	28,3	25,0	58,0	18,0	31,4	80	88	23	85	24	42
»	»	$0,4 \cdot 10^{-5}$	—	—	»	58,5	»	31,6	80	88	23	86	24	42
390519	18,0	$0,4 \cdot 10^{-4}$	19,1	19,4	22,0	40,0	15,6	23,0	61	62	21	55	21	31
»	»	$0,4 \cdot 10^{-5}$	»	20,6	»	39,0	»	25,7	61	66	21	45	21	35
»	»	$0,4 \cdot 10^{-6}$	»	20,6	»	27,8	»	19,0	61	66	21	28	21	26
380523	10,7	$1 \cdot 10^{-5}$	28,6	29,6	23,7	37,0	15,6	22,4	92	95	27	47	24	30
380527	21,2	$1 \cdot 10^{-4}$	18,2	21,4	20,7	39,6	14,0	22,8	59	69	22	54	19	31
Moyennes :			22	24	23	42	16	25	73	75	23	56	22	33
B. En solution de phosphates.														
380523	10,7	$1 \cdot 10^{-5}$	7,4	6,7	26,2	35,4	26,7	33,0	111	100	—	—	36	44
380527	21,2	$1 \cdot 10^{-4}$	5,0	6,0	16,3	29,0	17,8	29,0	75	90	—	—	24	39

4° INFLUENCE DE LA CYSTINE « TRAITÉE », DE LA CYSTÉINE ET DE H_2S SUR LE MÉTABOLISME DE PROP. ZEAE EN PRÉSENCE DE GLUCOSE.

Les tableaux XIX et XXII résument l'ensemble des résultats obtenus.

TABLEAU XXII

INFLUENCE DE LA CYSTINE TRAITÉE, DE LA CYSTÉINE ET DE H_2S SUR LE MÉTABOLISME DE PROP. ZEAE.

N° des expé- riences	Poids des bactéries en mg/5 cc	Nature et con- centration du dérivé thiol	F		f		R	
			Témoin	+ dérivé thiol	Témoin	+ dérivé thiol	Témoin	+ dérivé thiol
380.228	17,8	cystine traitée 4 mg/5 cc	65	107 °	5	77	20	38
380.310	12,3	id.	71	107	7	63	13	25
380.315	18,4	id.	55	75	2	46	14	16
380.318	10,1	néant	58	—	10	—	13	—
380.325	10,7	cystine traitée	69	96	0	47	17	21
		4 mg/5 cc	69	70 *)	0	4 *)	17	26 *)
		cystine non traitée	69	97	0	66	17	34
		4 mg/5 cc	69	97	0	66	17	34
380.303	13,2	3,3.10 ⁻⁵ mol. par 5 cc H_2S 5.10 ⁻⁶ mol. par 5 cc	82	100	6	—	19	—
Moyennes			69	97	4	60	16	27

*) Non compris dans le calcul des moyennes.

B. — Influence de H_2S sur le métabolisme de l'acide lactique et de l'acide pyruvique

L'influence exercée par H_2S sur la dégradation des acides lactique et pyruvique par *Prop. pentosaceum* dans différentes conditions est donnée dans les tableaux XXIII et XXIV.

TABLEAU XXIII

EXPÉRIENCE 390629

Influence de H_2S sur le métabolisme anaérobie et aérobie de Prop. pentosaceum en présence d'acide lactique

Méthode des doubles manomètres; tampon phosphates; masse bactérienne 2,8 mg. par 5 cc. ; concentration en H_2S 10^{-4} M.

Temps (minutes)	Q_{O_2}			Q_{CO_2}			Q_{CO_2} / Q_{O_2}	
	Témoin 1	Témoin 2	+ H_2S	Témoin 1	Témoin 2	+ H_2S	Témoin	+ H_2S
0-30	148	143	—	47	44	—	0,32	—
30-60	173	—	155	91	—	64	0,53	0,41
60-120	177	—	170	102	—	90	0,58	0,53

EXPÉRIENCE 390615

Méthode des doubles manomètres; masse bactérienne 4,4 mg. par 5 cc. Concentration en H_2S 10^{-4} M. Durée des mesures : 1 heure.

Tampon	Q_{N_2} ou Q_{CO_2}		Q_{O_2}		Q_{CO_2}		Q_{CO_2} / Q_{O_2}	
	Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S	Témoin	+ H_2S
Phosphate	7,9	12,8	117	146	51	75	0,43	0,51
Bicarbonate	6,2	8,9	91	107	37	65	0,4	0,6

TABLEAU XXIV

INFLUENCE DE H_2S SUR LE MÉTABOLISME ANAÉROBIE ET AÉROBIE
DE PROP. PENTOSACEUM EN PRÉSENCE D'ACIDE PYRUVIQUE.

N° de l'expérience	Tampon	Poids des bactéries en mg./5 cc.	Concentration en H^3S	$Q_{CO_2}^{N_2}$ ou $Q_{CO_2}^{CO_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{O_2}/Q_{O_2}$
380530	Bicarb.	14,3	0	18	15,4	25,2	1,63
			1.10^{-4} M	19,1	12,0	22,0	1,83
	Phosph.	»	0	11,2	24,4	30,6	1,25
			1.10^{-4} M	10,3	28,9	36,8	1,27
380602	Bicarb.	18,0	0	16,5	11,8	18,9	1,60
			1.10^{-4} M	16,8	13,5	22,2	1,64
	Phosph.	»	0	8,1	19,5	23,0	1,18
			1.10^{-4} M	9,2	26,0	32,5	1,25

C. — Discussion des résultats

Remarquons tout d'abord que les chiffres obtenus au cours d'expériences différentes présentent certains écarts dus évidemment à l'état physiologique des bactéries utilisées, mais que les chiffres d'une même expérience dont les différents essais ont été préparés à partir d'une même suspension bactérienne initiale sont rigoureusement comparables entre eux.

Remarquons aussi que les variations de la valeur absolue des vitesses de la fermentation et de la respiration n'ont aucune répercussion sur le sens des modifications subies par le métabolisme sous l'influence des dérivés thiols.

Il nous paraît donc légitime dans la discussion des résultats présentés dans les tableaux précédents, de raisonner soit sur les chiffres provenant d'une même expérience, soit sur les moyennes obtenues à partir des résultats d'une série d'expériences différentes.

L'action des dérivés sulfurés sur le métabolisme de *Prop. pentosaceum* ou de *Prop. Zeae* en présence de glucose se manifeste d'une façon particulièrement nette dans le cas où le milieu est tamponné à l'aide du mélange bicarbonate + CO_2 . Elle porte à la fois sur le métabolisme anaérobie, sur la fermentation aérobie et sur la respiration.

La fermentation en anaérobiose est légèrement mais constamment accrue par la présence de cystine « traitée » ou de cystéine; chez *Prop. pentosaceum*, cet accroissement qui peut atteindre 30 % (Exp. 380328) est en moyenne de 11 % dans le cas de la cystine « traitée » (Tableau XVIII). Il est en moyenne de 43 %, et peut atteindre 78 % (Exp. 380331) dans le cas de la cystéine (Tableau XX). Des résultats analogues sont obtenus avec *Prop. Zeae*. La fermentation anaérobie n'est pas sensiblement modifiée par H_2S .

La fermentation en aérobiose est fortement augmentée par la présence de cystine « traitée », de cystéine et de H_2S . Chez *Prop. pentosaceum*, l'accroissement est ici de 180 % en moyenne dans le cas de la cystine « traitée » (tableau XVIII) (il atteint 400 % dans l'expérience 380328), de 430 % en moyenne dans le cas de la cystéine (tableau XX), de 140 % en moyenne dans le cas de H_2S (tableau XXI) (il atteint 270 % dans l'expérience 380316 en présence de 2.10^{-8} mol. H_2S seulement). Avec *Prop. Zeae*, les résultats sont encore plus frappants, l'accroissement moyen de la fermentation par les dérivés thiols étant en moyenne de 1.400 % (tableau XXII).

La respiration enfin n'est dans aucun cas diminuée, mais au contraire augmentée aussi bien en présence de cystine « traitée » que de cystéine et de H_2S . Chez *Prop. pentosaceum*, cette augmentation est en moyenne de 60 % dans le cas de la cystine

« traitée » (tableau XVIII), de 80 % dans le cas de la cystéine (tableau XX), et de 50 % dans le cas de H_2S (tableau XXI). Cette augmentation est en moyenne de 68 % chez *Prop. Zeae* en présence des différents dérivés thiols (tableau XXII). Rappelons ici qu'il s'agit bien d'un accroissement réel de la respiration des bactéries, et non pas d'une oxydation des dérivés sulfurés, ceux-ci étant dans la plupart des expériences introduits à des concentrations trop faibles pour que leur oxydation éventuelle intervienne dans les mesures.

Dans le cas où le substratum est non plus du glucose mais de l'acide lactique ou de l'acide pyruvique, l'influence du groupe -SH (sous forme de H_2S) sur le métabolisme de *Prop. pentosaceum* est très différente de celle observée dans le cas du glucose et non moins intéressante. Ni la fermentation anaérobie, ni la fermentation aérobie, ni la respiration ne sont frappées. L'absence de toute action inhibitrice de H_2S sur l'oxydation de l'acide lactique en solution de phosphates, est particulièrement remarquable puisqu'il s'agit d'une oxydation dont l'intensité est relativement élevée, Q_{O_2} étant ici de l'ordre de 120.

Comme nous l'avons vu précédemment (chapitre II), la mesure du métabolisme normal de *Prop. pentosaceum* met en évidence dans le cas où le substrat est le glucose, le ralentissement classique de la fermentation en présence d'oxygène, autrement dit l'Effet Pasteur, ce phénomène n'ayant pas lieu dans le cas où le substrat est soit de l'acide lactique, soit de l'acide pyruvique.

Si au lieu d'utiliser le quotient de Meyerhof qui implique l'existence d'un mécanisme encore bien hypothétique de liaison étroite entre l'intensité de la respiration et la différence (fermentation anaérobie - fermentation aérobie) nous exprimons l'Effet Pasteur par la relation :

$$I = - \frac{F - (f + R)}{F} \cdot 100$$

affectée du signe — pour souligner qu'il s'agit d'une diminu-

TABLEAU XXV
INFLUENCE DE LA CYSTINE TRAITÉE SUR L'EFFET PASTEUR

N° de l'expérience	I		P	
	Témoin	+cystine traitée	Témoin	+cystine traitée
371.122	—59	—	50	54
380.225	—47	—19	49	40
382.328	—65	—17	63	34
380.502	—59	+ 9	62	39
Moyennes . . .	—57	— 9	56	42

TABLEAU XXVI.
INFLUENCE DE LA CYSTÉINE SUR L'EFFET PASTEUR

N° de l'expérience	Concentration de la cystéine en mol/5 cc	I		P	
		Témoin	+ cystéine	Témoin	+ cystéine
380.328	3,3.10 ⁻⁵	—64	+11	61	38
380.331	3,3.10 ⁻⁵	—34	— 2	60	31
380.331	8,3.10 ⁻⁶	—34	+36	60	36
380.331	2.10 ⁻⁶	—34	— 7	60	34
380.505	3,3.10 ⁻⁵	—72	+38	94	39
380.509	2.10 ⁻⁶	—59	+ 3	70	41
380.516	2.10 ⁻⁶	—41	+ 7	51	28
Moyennes		—48	+12	65	35

TABLEAU XXVII
INFLUENCE DE H₂S SUR L'EFFET PASTEUR

N° de l'expérience	Concentration de H ₂ S en mol/5 cc	I		P	
		Témoin	+H ₂ S	Témoin	+H ₂ S
380.512	2.10 ⁻⁶	—49	— 5	45	38
380.516	2.10 ⁻⁶	—41	+44	51	33
380.519	2.10 ⁻⁷	—31	+39	50	36
380.519	2.10 ⁻⁸	—31	+21	50	44
380.519	2.10 ⁻⁹	—31	— 9	50	48
380.523	5.10 ⁻⁸	—45	—19	47	39
380.527	5.10 ⁻⁷	—30	+23	46	37
Moyennes		—37	+13	48	39

TABLEAU XXVIII
INFLUENCE DES DÉRIVÉS THIOLS SUR L'EFFET PASTEUR CHEZ *PROP. ZEA*.

N° des expériences	Nature et concentration du dérivé thiol	I		P	
		Témoin	+ dérivé thiol	Témoin	+dérivé thiol
380.228	cystine traitée 4 mg/5 cc	-62	+ 7	80	33
380.310	id.	-72	-18	65	28
380.315	id.	-71	-17	87	26
380.318	néant	-60	—	57	—
380.325	cystine traitée 4 mg/5 cc	-75	-29	100	31
	cystéine 3,3.10 ⁻⁵ mol. par 5 cc	-75	+ 3	100	34
380.303	H ₂ S 5.10 ⁻⁶ mol. par 5 cc	-70	—	—	—
Moyennes		-69	-11	81	30

tion de vitesse, et si d'autre part nous exprimons l'importance relative de la respiration dans le métabolisme du glucose en aérobiose par le rapport

$$P = \frac{R}{f + R} \cdot 100$$

nous pouvons dresser les tableaux des valeurs que prennent ces expressions dans le cas où le métabolisme de *Prop. pentosaceum* ou de *Prop. Zeae* s'effectue en présence à la fois de glucose et de groupements -SH (tableaux XXV, XXVI, XXVII et XXVIII).

L'inhibition de l'Effet Pasteur sous l'influence des groupes -SH apparaît clairement. D'après les tableaux XXV, XXVI et XXVII elle est de 46 % en moyenne (moyenne générale des valeurs moyennes de ces tableaux) pour *Prop. pentosaceum*. D'après le tableau XXVIII elle est de 69 % dans le cas de *Prop. Zeae*.

L'ensemble de ces résultats appelle les remarques suivantes :

1° Il apparaît comme très probable que l'action de la cystéine vis-à-vis de la respiration et de la fermentation aérobie se ra-

mène, en définitive, à l'action de H_2S qui se dégage à partir de l'acide aminé sulfuré sous l'influence des bactéries propioniques. En effet, dès nos premières expériences, réalisées avec *Prop. pentosaceum* en présence de glucose et de cystéine, nous avons observé une décomposition de ce dérivé thiol se manifestant par un dégagement de H_2S aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose, facilement perceptible à la fin de l'expérience au moment où les récipients sont détachés des manomètres. Ce phénomène a fait l'objet d'une longue étude de Desnuelle, Wookey et Fromageot [7] qui ont montré notamment que la vitesse de production de H_2S à partir de cystéine dans ces conditions, est pratiquement constante en anaérobiose et indépendante de la concentration en cystéine ; elle correspond à un dégagement de H_2S de 1,5 γ par heure et par mg. de bactéries, si *Prop. pentosaceum* est en présence de glucose, et à 0,5 γ par heure et par mg. de bactéries si *Prop. pentosaceum* n'est en contact d'aucun substrat.

Nous pourrions donc, dans ce qui va suivre, confondre l'action de la cystéine et celle de H_2S .

2° Le fait que la respiration des bactéries étudiées n'est pas inhibée par H_2S semble indiquer que le système respiratoire de ces organismes est différent de celui de la plupart des autres cellules ou tissus. Depuis le travail de Negelein [44] sur les levures, et d'après lequel H_2S à la concentration de 10^{-4} M inhibe leur respiration en présence de glucose de près de 100 %, l'hydrogène sulfuré est généralement considéré comme un inhibiteur du ferment transporteur d'oxygène de Warburg, au même titre que le cyanure de potassium. Au cours d'expériences faites parallèlement aux nôtres (et non encore publiées), J. Chauvet a observé, suivant les données classiques, une inhibition de 95 % de la respiration de *Mycoderma vini* en présence d'alcool éthylique par H_2S $2 \cdot 10^{-4}$ M. Remarquons cependant que si l'inhibition de la respiration cellulaire par le cyanure a été très fréquemment mesurée, il n'en est pas de même de l'inhibition par H_2S : nombre d'auteurs concluent à l'action de l'un par l'action de l'autre sans contrôle expérimental.

Le comportement de la respiration des bactéries propioniques se rapproche plutôt de celui de la respiration de *Chlorella*: cette algue, cultivée à l'abri de la lumière (métabolisme hétérotrophe) présente une respiration accrue par H_2S , mais en revanche, cultivée en pleine lumière, présente, en présence de glucose, une respiration abaissée de plus de moitié par H_2S 10^{-4} M et une respiration de base légèrement accrue par H_2S (Emerson) [14].

3° L'influence exercée par la cystéine sur la respiration des bactéries propioniques, diffère de celle observée par Quastel et Wheatley [49] sur les levures. Ces auteurs, en effet, ont trouvé que la cystéine, $6 \cdot 10^{-6}$ M, ralentit la respiration des levures de 75 %, en même temps qu'elle accroît leur fermentation aérobie de 70 %. Nos résultats se rapprochent davantage de ceux obtenus par Runnström, Runnström et Sperber [55], d'après lesquels la cystéine utilisée à des concentrations variant entre $1 \cdot 10^{-6}$ à $5 \cdot 10^{-7}$ molécules pour 2,4 cc., provoque chez les levures un accroissement notable de la fermentation aérobie sans diminution parallèle de la respiration. Mais aucune tentative n'a été faite par ces auteurs en vue de rechercher si l'action de la cystéine pouvait être assimilée à celle de H_2S .

4° L'abolition de l'Effet Pasteur par H_2S (ou cystéine) dans le cas du métabolisme de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose est à rapprocher des inhibitions de l'Effet Pasteur antérieurement observées à propos du métabolisme d'autres cellules vivantes, en faisant agir une série de substances ayant pour la plupart le caractère commun de se combiner avec les métaux lourds (tableau XXIX).

Les dérivés sulfurés se distinguent néanmoins de l'ensemble de ces substances par le fait, qui nous paraît d'une importance capitale, qu'ils sont susceptibles d'exister ou de prendre naissance naturellement dans les milieux biologiques : nous avons signalé plus haut l'aptitude que possède *Prop. pentosaceum* à provoquer le dégagement de H_2S à partir de la cystéine en présence de glucose. Il nous paraît intéressant d'ajouter ici d'une part que chez *B. Coli* il existe une l-cystéinase qui décompose la cystéine avec production de H_2S et de NH_3 (20,6)

TABLEAU XXIX

Substances	Organismes ou tissus chez lesquels a été observée la suppression de l'Effet Pasteur	Auteurs
Ethylcarbylamine 10^{-3} M .	Tissus de rats : foie, rein, testicules. Tissu embryonnaire. Sarcome de Jensen.	Warburg [66].
Acide cyanhydrique 10^{-4} M	Pois sauvage.	Genevois [26].
id.	Rétine.	Laser [36].
5-nitro-4-chloro-2-amido - phénol.	Tumeurs.	Krah [32].
Guanidine.	Tumeurs.	Bumm et Appel [2].
Arginine	Tumeurs.	id.
4-6-dinitro-o-crésol.	Sarcome de Jensen.	Dodds et Greville [13].
Styryl « 430 » de Brow- ning.	Tumeurs du rat.	Dickens [10].
Phénosafranine 10^{-5} M ..	Tissu cérébral. Tumeurs.	Dickens [9].
Acides maléique et gluta- mique.	Tissu cérébral.	Weil-Ma'herbe [71].

et d'autre part que le foie du chien renferme une désulfurase capable également de libérer H_2S à partir de la cystéine [25]. Quoiqu'il s'agisse dans ces différents cas de mécanismes de démolition de la cystéine différents, ceux-ci aboutissent au même résultat, la production de H_2S au sein même des cellules.

Le cas de l'inhibition de l'Effet Pasteur par H_2S chez *Prop. pentosaceum* paraît donc être plus qu'un simple exemple à ajouter à la liste précédente (tableau XXIX), même complétée par les travaux cités plus haut sur la cystéine, le glutathion et l'acide thioglycolique. L'existence simultanée, dans cet organisme, d'un système enzymatique de désulfuration de la cystéine, d'un système respiratoire insensible à H_2S , et de l'Effet Pasteur capable d'être supprimé par H_2S , suggère le rôle régu-

lateur biologique que doit pouvoir naturellement jouer H_2S dans les rapports existant entre le métabolisme fermentaire et le métabolisme respiratoire de *Prop. pentosaceum*.

Appendice

ESSAIS D'INACTIVATION PAR LAVAGES DE PROP. PENTOSACEUM ET DE PROP. ZEAÉ

Les microorganismes récoltés et traités suivant la technique habituelle, sont ensuite soumis à un lavage prolongé dans les conditions suivantes : le lavage a lieu dans une étuve à la température de 28° en plaçant la suspension bactérienne dans une bougie Chamberland (L_3) mise en communication avec un réservoir contenant une solution saline glucosée et bicarbonatée, saturée de CO_2 . Un barbotage continu de CO_2 assure l'anaérobiose en même temps que la constance du pH à 6,4, et l'agitation énergique des bactéries nécessaires à leur maintien en suspension. L'opération a lieu dans des conditions aseptiques. La solution saline traverse la bougie Chamberland pendant 15 à 20 heures, à raison de 50 cc. environ à l'heure. Au bout de ce temps, les bactéries lavées sont recueillies par centrifugation et débarrassées de leur glucose par mise en suspension dans une solution NaCl 0,9 % suivie d'une nouvelle centrifugation. Le métabolisme des bactéries ainsi traitées est mesuré en aérobiose et en anaérobiose, en présence ou en l'absence de groupements -SH, le substrat étant dans tous les cas du glucose.

Les résultats de ces mesures sont donnés dans le tableau XXX qui donne lieu aux observations suivantes :

1° Les valeurs absolues de F, f et R aussi bien en présence qu'en l'absence des dérivés sulfurés, sont inférieures à celles des organismes normaux, aussi bien dans le cas de *Prop. Zeae* que dans celui de *Prop. pentosaceum*.

2° Chez *Prop. pentosaceum*, l'activation de la fermentation anaérobie par la cystine « traitée » est beaucoup plus marquée dans le cas des organismes lavés (65 %) que dans celui des organismes normaux (11 %). Cette réactivation des organis-

TABLEAU XXX

MÉTABOLISME DE PROP. PENTOSACEUM ET DE PROP. ZEAÉ LAVÉS
INFLUENCE DES GROUPEMENTS SH.

I. PROP. PENTOSACEUM LAVÉ.

CONCENTRATION EN CYSTINE TRAITÉE : 4 mg POUR 5 CC DE SUSPENSION BACTÉRIENNE

N° de l'expérience	Poids bactéries en mg/5 cc	F		f		R	
		Témoin	+cystine traitée	Témoin	+cystine traitée	Témoin	+cystine traitée
380.204	11,2	40	57	14	26	14	13
380.210	9,0	30	69	9	28	9	16
380.214	11,1	43	70	21	51	16	27
380.219	13,9	41	55	12	—	13	—
380.225	9,7	38	62	17	29	14	18
	Moyennes :	38	63	15	34	13	19
380.222	15,2 *)	23	31	14	23	11	11

*) Bactéries ayant subi un lavage de 38 heures.

2. PROP. ZEAÉ LAVÉ

N° des expériences	Poids des bactéries en mg/5 cc	Nature et concentration du dérivé thiol	F		f		R	
			Témoin	+ dérivé thiol	Témoin	+ dérivé thiol	Témoin	+ dérivé thiol
380.228	22,2	cystine traitée 4 mg/5 cc	54	72	14	51	21	28
380.310	13,8	id.	42	58	12	39	12	16
380.322	17,5	id.	41	56	4	17	15	19
380.303	12,4	H ₂ S 5. 10 ⁻⁶ mol. par 5 cc	36	—	6	—	13	—
Moyennes			43	62	9	36	15	21

mes inactivés par lavage confirme le rôle important que jouent les dérivés sulfurés dans la fermentation anaérobie du glucose, rôle antérieurement mis en évidence à l'aide des bactéries utilisées en petites masses. Cependant, le fait que cette réactivation n'est pas totale, indique que le lavage agit en enlevant

d'autres substances que celles pouvant être remplacées par un dérivé sulfuré. Nos résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par Califano [3] qui a réussi à réactiver à l'aide de la cystéine la fermentation du glucose par *B. Coli* préalablement inactivé par lavage. Dans le cas de *Prop. Zeae*, chez lequel l'activation par la cystine « traitée » ou la cystéine est déjà de 40 % pour les organismes normaux, l'activation de la fermentation en anaérobiose pour les organismes lavés reste la même (44 %).

3° L'Effet Pasteur en l'absence de dérivé sulfuré, se manifeste d'une façon moins marquée chez les organismes lavés que chez les organismes normaux : la diminution du métabolisme aérobie du glucose par rapport à son métabolisme anaérobie n'est plus en effet que de 16 % chez *Prop. pentosaceum* et de 39 % chez *Prop. Zeae* au lieu de 57 % et de 71 % chez les organismes normaux.

L'influence des dérivés sulfurés sur l'Effet Pasteur est sensiblement la même chez les organismes lavés que chez les organismes normaux. En dehors de son action sur la fermentation en anaérobiose, le lavage semble ainsi rendre le système fermentaire aérobie moins sensible à l'action de l'oxygène.

CHAPITRE V

ACTION DE L'ACIDE CYANHYDRIQUE ET DE L'OXYDE DE CARBONE SUR LA RESPIRATION DE *PROPIONIBACTERIUM PENTOSACEUM*

Les résultats du précédent chapitre ayant mis en évidence l'insensibilité absolue du système respiratoire de *Prop. pentosaceum* vis-à-vis de H_2S , il devenait particulièrement intéressant d'examiner le comportement de ce même système vis-à-vis de deux substances bien connues comme inhibiteurs du ferment respiratoire de Warburg : l'acide cyanhydrique et l'oxyde de carbone, les bactéries se trouvant en présence de glucose, d'acide lactique ou d'acide pyruvique.

Rappelons brièvement les caractères de l'inhibition provoquée par l'oxyde de carbone et l'acide cyanhydrique sur la respiration.

Mode d'action de l'oxyde de carbone. — L'inhibition d'une réaction enzymatique par CO indique d'une façon indubitable la présence d'un métal lourd. En ce qui concerne le fer, CO se combine avec le fer ferreux, et inhibe son oxydation. Les complexes $R-Fe^{++}CO$ présentent des degrés variés d'aptitude à la photodissociation.

Ces caractères généraux relatifs au mode d'action de CO prennent une signification plus précise dans le cas particulier du processus de respiration cellulaire, au cours duquel l'expérience a montré que CO se combine non pas avec un ferment à base d'hémine tel que le cytochrome, mais avec le ferment transporteur d'oxygène de Warburg. Les rapports d'affinité de l'oxyde de carbone et de l'oxygène vis-à-vis de ce ferment ont été déterminés, de même que la sensibilité de la réaction à la

lumière, d'autant plus grande que la température est plus basse [67, 68].

Mode d'action des cyanures. — D'une façon générale, une inhibition par le cyanure de potassium n'indique pas d'une façon indiscutable la présence d'un métal lourd dans une catalyse; cette inhibition étant d'autant moins significative que les concentrations de cyanure actives sont plus élevées. De même que l'oxyde de carbone, le cyanure ne réagit pas avec le cytochrome, mais il réagit avec le ferment transporteur d'oxygène de Warburg. Contrairement à CO, le cyanure a plus d'affinité pour le fer ferrique que pour le fer ferreux : il inhibe donc la réduction du ferment respiratoire. Cette inhibition est indépendante de la pression d'oxygène [68].

A. — Influence du Cyanure de potassium sur la respiration de Prop. pentosaceum en présence de glucose d'acide lactique ou d'acide pyruvique

Le cyanure de potassium utilisé ici est le produit cristallisé pur pour analyse de la maison Prolabo; ses solutions faites avec de l'eau distillée bouillie sont toujours fraîchement préparées au moment de l'emploi.

L'intensité de la respiration en présence de cyanure est mesurée soit par la méthode des doubles manomètres, soit par la méthode à la potasse. Dans ce dernier cas, utilisé lorsque le milieu est tamponné par le mélange de phosphates, il faut évidemment éviter que HCN dissous dans le milieu biologique ne se fixe sur la potasse contenue dans la partie centrale du récipient; aussi convient-il de prendre les précautions suivantes : les récipients de l'appareil de Warburg, après avoir été fixés à leur manomètre dans les conditions habituelles, sont tout d'abord mis en équilibre de température, par agitation, avant toute introduction de cyanure; à un instant donné, et aussi rapidement que possible, ce dernier est introduit sous forme de 0,03 cc. d'une solution de KCN dans KOH 0,05 N, que l'on place dans l'ampoule latérale du récipient. On agite de nouveau l'ensemble de l'appareil pendant 10 minutes; on fait

une lecture de la dénivellation du manomètre puis, on met en contact, par renversement, la solution de cyanure avec les 2 cc. de suspension bactérienne contenus dans la partie principale du récipient de l'appareil de Warburg. On lit ensuite, toutes les 5 minutes, les indications données par les manomètres, et ce, pendant 30 minutes. On peut admettre en effet que pendant ce temps, la perte d'acide cyanhydrique subie par le milieu est pratiquement négligeable.

Dans le cas où le milieu est tamponné par du bicarbonate et où, par conséquent, l'atmosphère surmontant la solution est riche en CO_2 , l'introduction de la solution KCN (non alcalinisée par la potasse), demande également quelques précautions du fait de la réaction du CO_2 sur KCN qui se manifeste par une absorption violente de gaz à l'intérieur de l'appareil de Warburg. Toute dénivellation brutale du liquide manométrique est évitée en opérant ainsi : on ferme hermétiquement le petit bouchon de l'ampoule latérale du récipient que l'on avait maintenu soulevé lors du passage des gaz pour permettre à ceux-ci de s'échapper après avoir traversé la cellule, et l'on maintient le manomètre en communication avec la bouteille renfermant le mélange gazeux pendant environ 2 minutes; ce n'est qu'ensuite, après avoir constaté que toute absorption a pratiquement cessé, que l'on ferme définitivement le robinet isolant le manomètre de la bouteille à gaz.

Le tableau XXXI montre l'action exercée par HCN sur le métabolisme aérobie de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose, d'acide lactique ou d'acide pyruvique. Il ressort des chiffres expérimentaux obtenus que :

1° en présence de glucose, HCN possède une influence inhibitrice très nette sur la consommation d'oxygène, mais cette influence ne se manifeste que pour des concentrations relativement élevées. En solution de bicarbonate, la suppression totale de toute respiration nécessite une concentration en cyanure de 1.10^{-2} M. En solution de bicarbonate comme en solution de phosphate, une concentration en cyanure de 1.10^{-3} M. ne donne plus qu'une inhibition de 45 %. Il est intéressant de comparer ces inhibitions à celles obtenues avec d'autres orga-

TABLEAU XXXI

INFLUENCE DU CYANURE DE POTASSIUM SUR LA RESPIRATION DE
PROP. PENTOSACEUM EN PRÉSENCE DE GLUCOSE, D'ACIDE LACTIQUE
OU D'ACIDE PYRUVIQUE.

N° des expériences	Poids des bactéries en mg./5 cc.	Tampon	Substrat.	Concentration en KCN	Q _{O₂}	Q _{O₂} Q _{CO₂}	Inhibition %
370128	10,5	Bic.	Glucose	1.10 ⁻² M	0	21,0	100
				2.10 ⁻³ M	6,1	25,0	68
				1.10 ⁻³ M	10,6	25,0	45
				2.10 ⁻⁴ M	19,1	30,6	0
				1.10 ⁻⁴ M	19,2	27,0	0
390710	15,9	Phos.	Glucose	0	26,6	24,6	—
				1.10 ⁻³ M	14,8	27,8	45
390710	2,27	Phos.	Lactate Na	0	137,5*	30,5	—
				1.10 ⁻³ M	127** 62	37,2 60,5	— 48
370.208	12,1	Bic.	Pyruvate Na	0	18	30	—
				2.10 ⁻³ M	17,7	29,5	0

* Respiration des bactéries pendant la première heure de mesures et avant le retournement de KCN.

** Respiration des bactéries dans un essai témoin pendant la deuxième heure de mesures alors que KCN est déjà en contact avec les bactéries dans l'essai réel.

nismes que les bactéries propioniques : une expérience faite en collaboration avec J. Chauvet, sur *Mycoderma vini* et sur *Prop. pentosaceum* (exp. 390710) dans des conditions identiques, à cela près que la respiration de *Mycoderma vini* avait comme substratum de l'alcool éthylique et celle de *Prop. pentosaceum* du glucose ou du lactate a montré que chez *Mycoderma*, 90 % de la respiration se trouvent bloqués par HCN 1.10⁻³ M. Rappelons en outre que la respiration de levures de boulangerie en présence de glucose subit une inhibition de 100 % en présence de HCN 1.10⁻³ M. de 80 % en présence de HCN 1.10⁻⁴ M. et de 28 % en présence de HCN 1.10⁻⁵ M. [68]. La respiration de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose apparaît donc com-

me relativement peu sensible à l'action des cyanures. Remarquons enfin qu'au fur et à mesure que s'accroît dans le milieu la concentration en acide cyanhydrique et par conséquent que la respiration de *Prop. pentosaceum* est de plus en plus freinée, l'importance de la fermentation devient de plus en plus grande : on retrouve ici un phénomène classique de substitution de la fermentation à la respiration.

2° L'influence exercée par HCN sur la consommation d'oxygène en présence d'acide lactique est analogue à celle que nous venons de rencontrer dans le cas du glucose : une concentration de 1.10^{-3} M. en HCN provoque une inhibition de l'oxydation de 48 %.

3° Quant à la consommation d'oxygène par *Prop. pentosaceum* en présence d'acide pyruvique, elle est insensible à HCN, même à la concentration de 2.10^{-3} M.

B. — Influence de l'oxyde de carbone sur la respiration de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose ou d'acide lactique

L'oxyde de carbone est obtenu en versant goutte à goutte de l'acide formique dans de l'acide sulfurique concentré et maintenu à 100° ; il est purifié par barbotage dans une solution concentrée de potasse, selon la méthode indiquée par Warburg [67], puis est recueilli dans des éprouvettes graduées où il est additionné d'oxygène en proportion convenable.

Les bactéries utilisées ici sont des cultures de *Prop. pentosaceum* jeunes, âgées seulement de 38 à 40 heures et douées ainsi d'une activité respiratoire aussi grande que possible, ce qui permet de les employer à des concentrations relativement faibles, et telles qu'un volume de 2 cc. de la suspension bactérienne, tout en donnant naissance, en 10 minutes, à une dénivellation manométrique mesurable, n'épuise pas trop rapidement l'oxygène contenu dans l'atmosphère très riche en CO surmontant cette suspension.

Ces bactéries se trouvent en présence de glucose ou d'acide lactique à la concentration de 1 % au lieu de 0,5 % comme

dans la plupart des expériences précédentes; ceci afin d'être sûr d'avoir toujours un excès de substratum même dans les expériences de longue durée.

Les mesures de la consommation d'oxygène sont faites ici uniquement au moyen de la méthode à la potasse; elles ont lieu après des périodes successives durant lesquelles les récipients agités dans le thermostat sont soit maintenus à l'obscurité soit maintenus à l'action d'une vive lumière.

1° *Influence de l'oxyde de carbone sur l'oxydation du glucose par Prop. pentosaceum.*

Une série d'expériences, faisant l'objet du tableau XXXII, nous ont montré que l'oxyde de carbone présent sous forme d'un mélange constitué par 95 % CO + 5 % O₂, n'exerce, même à l'obscurité, aucune espèce d'inhibition de la respiration de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose. Nous discuterons plus loin la signification de cette résistance de l'oxydation du glucose à H₂S, à CO et, en partie, à HCN.

2° *Influence de l'oxyde de carbone sur l'oxydation de l'acide lactique par Prop. pentosaceum.*

Il ressort de l'ensemble des mesures effectuées précédemment (notamment au chap. II), que l'oxydation de l'acide lactique par *Prop. pentosaceum* en présence de phosphates correspond à une consommation d'oxygène qui, pour cet organisme, est particulièrement intense (Q_{O₂} étant de l'ordre de 125).

Aussi nous a-t-il paru intéressant d'étudier l'influence de l'oxyde de carbone sur ce type d'oxydation. Le détail des expériences ainsi que les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux XXXIII, XXXIV et XXXV.

TABLEAU XXXII

INFLUENCE DE L'OXYDE DE CARBONE SUR LA RESPIRATION
DE PROP. PENTOSACEUM EN PRÉSENCE DE GLUCOSE
EXPÉRIENCE 390227

Age de la culture, 38 heures ; volume liquide, 2 cc. ; tampon phosphates pH, 6,4 ; glucose, 1 % ; température, 29° ; temps d'équilibration précédant les mesures, 75 minutes.

Les chiffres donnés dans ce tableau expriment l'absorption d'oxygène en mm³.

N° des récipients	1	2	3	4	5
Masses bactér. en mg. . Gaz	3,45 air	4,6 air	4,6 air	4,6 air	4,6 air
Première demi-heure .					
0-10 minutes	20,4	28	27,9	27,6	28,2
10-20 minutes	20,4	30,4	29,1	28,8	28,2
20-30 minutes	20,4	29,2	29,1	28,8	28,2
Gaz	air	95 % N ₂ + 5 % O ₂	air	air	air
Troisième demi-heure.					
60-70 minutes	16,6	24,3	24,2	25,2	25,7
70-80 minutes	17,9	27,9	26,7	27,6	27,0
80-90 minutes	19,2	26,7	25,4	25,2	23,1
Gaz	air	95 % N ₂ + 5 % O ₂	95 % CO + 5 % O ₂	95 % CO + 5 % O ₂	95 % CO + 5 % O ₂
Troisième heure :					
120-130 min. (obscurité)	15,4	25,5	24,2	22,8	30,8
130-140 min. id.	15,4	24,3	21,8	21,6	23,1
140-150 min. id.	15,4	25,5	21,8	22,8	25,7
150-160 min. (lumière).	16,6	23,1	21,8	21,6	23,1
	Q O ₂				
Première heure	35,5	38,1	37,4	37,1	36,8
Deuxième heure	31,1	34,3	33,2	34,0	33,0
Troisième heure	27,3	32,1	29,3	29,0	33,5

TABLEAU XXXIII

INFLUENCE DE L'OXYDE DE CARBONE SUR LA RESPIRATION DE PROP. PENTOSACEUM
EN PRÉSENCE D'ACIDE LACTIQUE. — EXPÉRIENCE 390612

Age de la culture, 40 heures ; volume liquide, 2 cc. ; masse bactérienne, 0,9 mg. par essai ; lactate de soude, 1 % ; tampon phosphates, pH 6,4 ; temps d'équilibration précédant les mesures, 70 minutes.

Les chiffres ci-dessous indiquent les dénivellations du liquide manométrique en mm.

Disposition des expériences	Récipient 1	Récipient 2	Récipient 3
Réservoir central ..	0,3 cc. KOH 5 %	0,3 cc. KOH 5 %	0,3 cc. KOH 5 %
Réservoir principal.	Susp. bact. 2 cc.	Susp. bact. 2 cc.	Susp. bact. 2 cc.
V en cc. L	2,30	2,30	2,30
V en cc. G	13,33	13,21	13,78
k O ₂	1,212	1,201	1,253
Gaz	air	air	air
Première heure			
0-10 minutes	20	19	19
10-20 minutes	20	21	20
20-30 minutes	19	20	18
30-40 minutes	18	20	19
Gaz	air	95 % CO + 5 % O ₂	95 % CO + 5 % O ₂
Troisième heure :			
Obscurité :			
120-135 min.	25	13	12
135-140 min.	8	3	3
Lumière :			
140-150 min.	16	7	8
150-160 min.	17	9	9
Obscurité :			
160-165 min.	6	2	3
165-170 min.	9	4	3
Lumière :			
170-180 min.	15	8	8
180-185 min.	10	5	6
Obscurité :			
185-195 min.	15	6	6
195-200 min.	7	4	4
Lumière :			
200-210 min.	16	7	8
	Q O ₂		
Première heure....	155	154	153
Troisième heure ..	123	66	62

Inhibition moyenne : 48 %

TABLEAU XXXIV

INFLUENCE DE L'OXYDE DE CARBONE SUR LA RESPIRATION DE PROP. PENTOSACEUM
EN PRÉSENCE D'ACIDE LACTIQUE. — EXPÉRIENCE 390703 (1)

Age de la culture, 40 heures ; masse bactérienne par essai, poids sec, 0,876 mg. ; lactate de soude, 1 % ; tampon phosphates, pH 6,4 ; température, 29° ; temps d'équilibration précédant les mesures, 70 minutes.

Les chiffres donnés dans ce tableau indiquent les dénivellations du liquide manométrique en mm.

Disposition des expériences	Récipient 1	Récipient 2	Récipient 3	Récipient 4
Réservoir central	0,3 cc. KOH 5 %	0,3 cc. KOH 5 %	0,3 cc. KOH 5 %	0,3 cc. KOH 5 %
Réservoir principal ..	Susp. bact. 2 cc.	Susp. bact. 2 cc.	Susp. bact. 2 cc.	Susp. bact. 2 cc.
V en cc. L	2,3	2,3	2,3	2,3
V en cc. G	13,72	13,58	13,33	13,21
k O ₂	1,247	1,235	1,212	1,201
Gaz	air	air	air	air
Première heure :				
0-10 minutes	14	14	15	14
10-20 minutes	16	17	16	17
20-30 minutes	15	16	17	16
30-40 minutes	13	13	13	14
40-50 minutes	14	14	14	14
Gaz	air	95 % CO +5 % O ₂	95 % CO +5 % O ₂	95 % CO +5 % O ₂
Quatrième heure :				
Obscurité :				
180-195 min.	21	11	11	11
Lumière :				
195-210 min.	21	11	12	11
Obscurité :				
210-215 min.	7	4	1	5
215-225 min.	12	6	7	6
Lumière :				
225-230 min.	7	4	3	3
230-240 min.	13	7	6	7
	Q O ₂			
Première heure.	125	126	126	124
Quatrième heure.	115	61	55,5	59

TABLEAU XXXV

INFLUENCE DE L'OXYDE DE CARBONE SUR LA RESPIRATION
DE PROP. PENTOSACEUM EN PRÉSENCE D'ACIDE LACTIQUE
EXPÉRIENCE 390703 (2)

Mêmes conditions que dans l'expérience précédente, sauf en ce qui concerne le temps d'équilibration qui est ici de 120 minutes.

Les chiffres donnés dans ce tableau indiquent les dénivellations du liquide manométrique en mm.

k_{O_2}	Récipient 5	Récipient 6	Récipient 7	Récipient 8
	1,247	1,284	1,253	1,243
Gaz	air	air	air	air
Première heure :				
0-10 minutes	13	13	14	12
10-20 minutes	15	14	14	15
20-40 minutes	28	25	25	25
40-60 minutes	27	27	28	28
Gaz	air	85 % CO + 15 % O ₂	90 % CO + 10 % O ₂	95 % CO + 5 % O ₂
Troisième heure :				
Obscurité :				
120-135 min.	19	16	15,5	10
Lumière :				
135-140 min.	5	4	4	2,5
140-150 min.	11	10	10	6,5
Obscurité :				
150-155 min.	6,5	5,5	5,5	4,5
155-165 min.	10,5	9	9	5
	Q_{O_2}			
Première heure	115	116	116	114
Troisième heure	99	87	86	54

Ces résultats montrent nettement que, contrairement à ce qui se passe dans le cas du glucose, un mélange gazeux comprenant 95 % CO + 5 % O₂ inhibe d'environ 50 % la respiration de *Prop. pentosaceum* en présence de lactate en milieu phosphaté et à l'obscurité, mais cette inhibition n'est nullement atténuée sous l'action de la lumière. Il convient de signaler, à ce point de vue, que dans l'une des expériences précédentes (exp. 390403), nous avons, en collaboration avec J. Chauvet, étudié parallèlement la respiration de *Prop. pentosaceum* en présence de lactate et celle de *Mycoderma vini* en présence d'alcool éthylique, avec le même mélange gazeux (95 % CO + 5 % O₂), et à la même température, et que, dans ces conditions, la respiration de *Mycoderma vini* subit à l'obscurité une inhibition d'environ 60 % qui se réduit à 27 % sous l'action de la lumière, alors que celle de *Prop. pentosaceum* reste dans les deux cas uniformément inhibée de 50 %.

Il apparaît ainsi qu'à la température de 29°, le complexe CO-Ferment respiratoire est beaucoup moins facilement dissociable sous l'action de la lumière chez *Prop. pentosaceum* que chez *Mycoderma vini*. Peut-être eût-on pu, chez le premier de ces organismes, observer cette dissociation photochimique en opérant à plus basse température ; mais la faiblesse du métabolisme des bactéries propioniques maintenues à des températures sensiblement inférieures à 29° eût rendu toute mesure trop incertaine pour permettre d'en tirer des conclusions valables.

Aussi, nous sommes-nous contentés de montrer qu'il s'agissait bien ici, comme dans les autres cas d'inhibition par l'oxyde de carbone, de la formation d'un complexe dissociable, en mettant en évidence le fait que l'inhibition par CO diminue considérablement si l'on abaisse la concentration de ce gaz : il ressort en effet de l'expérience 390703 que l'inhibition qui est de 56 % pour un mélange contenant 95 % de CO, n'est plus que de 13 % pour un mélange renfermant 90 % de ce même gaz.

NOTE CONCERNANT LA PRÉSENCE DE LA CATALASE CHEZ
PROP. PENTOSACEUM

Nous avons signalé au début de ce travail que les bactéries propioniques renferment très généralement de la catalase. Il nous a paru utile de vérifier la présence de ce ferment chez l'espèce que nous avons utilisée au cours des présentes recherches. Cette vérification, qui a pleinement confirmé les résultats antérieurs, est illustrée par les chiffres du tableau XXXVI.

TABLEAU XXXVI.

PRÉSENCE DE LA CATALASE CHEZ PROP. PENTOSACEUM.

Age des bactéries 40 heures ; tampon phosphate pH 6,4 ; température 29°.

	Récipient 1	Récipient 2	Récipient 3	Récipient 4	Récipient 5	Récipient 6	Récipient 7
Réservoir principal :	SO ₄ H ₂ 1 % 1 cc	SO ₄ H ₂ 1 % 1 cc.	Susp. bact. 2,2 cc. (bact. = 11 mg.)	Tampon phosphate 1,9 cc.	Susp. bact. 2,1 cc. (bact. = 11 mg)	Susp. bact. 1,9 cc. (bact. = 5,5 mg)	Susp. bact. 1,9 cc. (bact. 3,3 mg)
Ampoule latérale	NaCl 0,9% 0,9 cc. sol. H ₂ O ₂ 0,1 cc. MnO ₄ K 10 % 0,1 cc.	NaCl 0,9% 0,7 cc. sol. H ₂ O ₂ 0,3 cc. MnO ₄ K 10 % 0,1 cc.	—	Sol. H ₂ O ₂ 0,3 cc.	Sol. H ₂ O ₂ 0,3 cc.	Sol. H ₂ O ₂ 0,3 cc.	Sol. H ₂ O ₂ 0,3 cc.
Ampoule centrale : O ₂	— 1,219	— 1,356	KOH 5% 0,3 cc. 1,305	KOH 5 % 0,3 cc. 1,266	KOH 5 % 0,3 cc. 1,170	KOH 5 % 0,3 cc. 1,248	KOH 5 % 0,3 cc. 1,235

DÉNIVELLATION MANOMÉTRIQUE EN mm.

0-5 minutes	0	0	—9	0	—10	—2	—2
Retournement du contenu de l'ampoule latérale dans l'ampoule principale.							
5-10 minutes	+55	+152	—8	0	+77	+69	+45
10-20 minutes	—1	0	—15	—1	11	+1	+33
20-35 minutes			—13	0	—13	—5	—3
O ₂ total dégagé							
	+67	+206	QO ₂ = —8 Pendant les 25 dernières minutes.	—	O ₂ total dégagé en 30 min. compte tenu de la respiration	103	106

CHAPITRE VI

DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS

A. — Métabolisme anaérobie

D'après les conclusions, tirées au Chapitre III, de nos expériences sur l'action du fluorure et de l'acide monoiodacétique sur le métabolisme anaérobie de *Prop. pentosaceum*, et d'après les observations antérieurement citées de Werkman, on doit, à l'heure actuelle, admettre que la dégradation anaérobie du glucose par les bactéries propioniques et en particulier par *Prop. pentosaceum*, suit, jusqu'à l'acide lactique, le schéma classique de phosphorylation et d'oxydo-réduction de Meyerhof. En tenant compte de la transformation ultérieure de l'acide lactique et de l'acide pyruvique en acides propionique et acétique, la dégradation anaérobie du glucose par *Prop. pentosaceum* peut être représentée par le schéma représenté sur la figure 2, dans lequel sont données principalement les équations nécessaires à la discussion du mécanisme de l'Effet Pasteur.

B. — Métabolisme aérobie

Notre étude de la respiration normale de *Prop. pentosaceum* (Chapitre II), et de l'influence exercée sur cette respiration par H_2S (Chapitre IV), HCN et CO (Chapitre V), montre qu'elle est caractérisée de la façon suivante :

Schéma de la fermentation propionique (dégradation anaérobie) du glucose, de l'acide lactique et de l'acide pyruvique par Prop. pentosaceum.

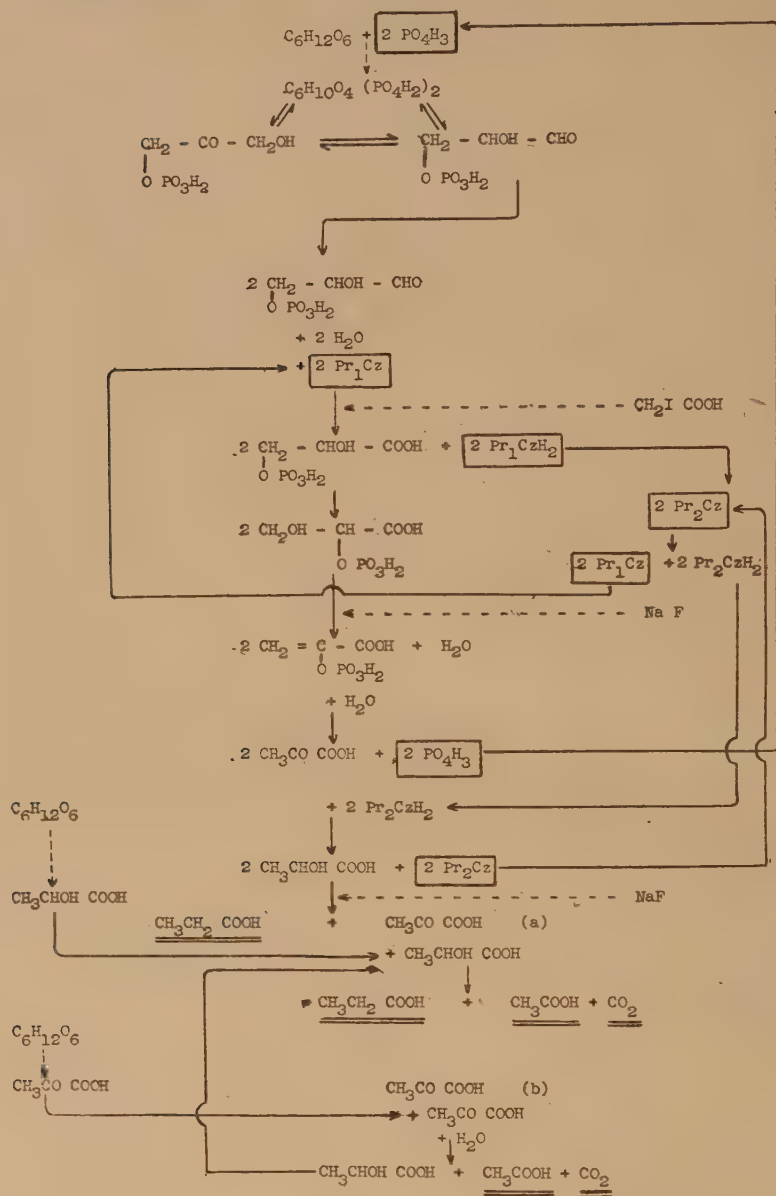


FIGURE 2

Dans ce schéma, lorsque deux corps sont séparés par le signe + et se trouvent sur une même ligne horizontale, ils proviennent ensemble du ou des substances qui les précèdent ; lorsqu'ils sont séparés par le signe + et sont placés l'un au-dessous de l'autre, ils réagissent l'un avec l'autre pour donner la ou les substances qui les suivent.

— en présence de glucose :

Q_{O_2} moyen (en présence de phosphates) = 26.

Sensibilité nulle à H_2S .

Sensibilité relativement faible à HCN .

Sensibilité nulle à CO .

— en présence d'acide lactique :

Q_{O_2} moyen (en présence de phosphates) = 133.

Mêmes caractères qu'en présence de glucose, sauf en ce qui concerne CO à la présence duquel la respiration est ici nettement sensible.

a) *Dans le cas de la respiration en présence d'acide lactique* : le ralentissement très net de cette respiration par CO nous semble la preuve indiscutable de la présence, chez *Prop. pentosaceum*, du ferment respiratoire de Warburg, seul ferment respiratoire connu dont l'action soit inhibée par CO .

Comme d'autre part, l'activité du ferment respiratoire de Warburg consiste en la réoxydation spécifique du cytochrome *a* réduit par le cytochrome *b* ou le cytochrome *c*, il en résulte que *Prop. pentosaceum* doit aussi contenir les différents cytochromes. En fait, des observations spectroscopiques, qui seront développées ultérieurement, nous ont permis de constater dans le spectre de lumière visible ayant traversé une suspension convenable des cellules en question, la présence des bandes d'absorption suivantes : 530, 555 et 610 $m\mu$; par aération, les bandes 530 et 610 disparaissent, alors que la bande 555 s'atténue nettement. Ces bandes correspondent précisément à la présence des cytochromes.

Ainsi se trouve démontrée l'existence, chez *Prop. pentosaceum*, du système respiratoire hémine comportant cytochromes et ferment respiratoire de Warburg (*). Il peut alors paraître curieux que ce système, qui n'est d'ailleurs bloqué par HCN que pour des concentrations relativement élevées de ce

* Remarquons à ce propos à quel point la constitution de *Prop. pentosaceum* est différente de celle des bactéries lactiques qui sont dépourvues de cytochrome et de catalase. Pour cette raison, il paraît équivoque de désigner les bactéries propioniques sous le nom de bactéries lactiques hétérofermentatives (au sens de Kluyver et Donker [31]) comme l'ont fait certains auteurs.

corps, ne soit absolument pas inhibé par H_2S ; on s'est habitué, en effet, à considérer que d'une façon générale, H_2S possède, à ce point de vue, la même action inhibitrice que HCN , et que ce dernier corps lui-même bloque le plus souvent toute respiration sensible à l'oxyde de carbone.

Il nous est impossible de donner ici aucune explication précise de cette indifférence totale de la respiration de *Prop. pentosaceum* vis-à-vis de H_2S ; mais il nous paraît important de rapprocher cette indifférence, de l'aptitude que manifeste ce même organisme à dégager H_2S à partir de la cystéine qui existe fréquemment, en petites quantités tout au moins, dans les milieux naturels ; on conçoit en effet que des cellules qui possèderaient les deux propriétés, en quelque sorte contradictoires, d'une part de dégager de l' H_2S et d'autre part d'être intoxiquées par cette même substance, ne pourraient vivre.

b) Quant à la respiration de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose, elle n'est, dans les conditions expérimentales réalisées ici, nullement ralentie ni par H_2S , ni par CO . Deux hypothèses peuvent expliquer l'insensibilité de cette respiration vis-à-vis de CO . — Ou bien l'oxydation du glucose se fait par un mécanisme différent de celui mis en jeu dans l'oxydation de l'acide lactique, et n'impliquant pas le fonctionnement du cytochrome et du ferment respiratoire de Warburg : cette oxydation aurait lieu par exemple directement par l'intermédiaire du ferment jaune, ce qui s'accorderait avec la faible intensité du métabolisme aérobie de *Prop. pentosaceum* en présence de glucose et avec la présence de catalase dans les cellules. Ou bien l'oxydation du glucose, comme celle de l'acide lactique, met en jeu le ferment respiratoire de Warburg et les cytochromes ; seulement, et ceci correspondrait encore à la faible intensité de l'oxydation du glucose, les cellules ne renfermeraient qu'une quantité réduite de gluco-déshydrogénase : une fraction minime de la quantité totale du ferment respiratoire serait alors suffisante pour assurer l'évacuation de l'hydrogène provenant du glucose et fourni par la gluco-déshydrogénase, évacuation qui serait largement assurée par la partie dissociée du complexe :



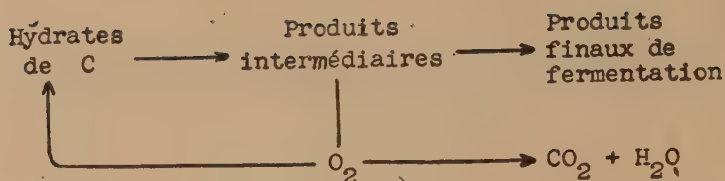
Aucun argument expérimental sérieux ne nous permet de trancher entre ces deux hypothèses.

C. — L'effet Pasteur : mécanisme ; inhibition.

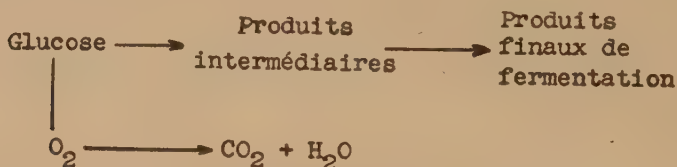
A propos du mécanisme de l'Effet Pasteur, plusieurs questions peuvent être posées : pourquoi la vitesse d'attaque du substrat est-elle plus faible en aérobiose qu'en anaérobiose ; pourquoi la mise en jeu de la respiration correspond-elle à une diminution de la fermentation ; le système respiratoire exerce-t-il son action sur le glucose lui-même ou sur un de ses produits de fermentation ?

Ces différentes questions ont été maintes fois discutées en ce qui concerne leur signification dans la physiologie cellulaire générale, et il n'y a pas lieu d'y revenir ici en détail, puisque d'excellentes mises au point ont été faites à ce sujet par Dixon [12] et Hoogerheide [28]. Rappelons seulement que deux théories principales cherchent à expliquer l'Effet Pasteur.

D'après la théorie classique de Meyerhof, la dégradation anaérobie du glucose a lieu avec la même intensité réelle en aérobiose qu'en anaérobiose ; mais en aérobiose, une fraction de l'un des derniers produits du métabolisme anaérobie (d'après Meyerhof ce produit est probablement l'acide pyruvique ou l'acide lactique) est oxydée, et l'énergie libérée par cette oxydation est utilisée pour la resynthèse de l'hydrate de carbone initial à partir de l'autre fraction du même produit, l'oxydation d'une molécule d'acide lactique, par exemple, entraînant la transformation de trois à quatre molécules d'acide lactique en glucose (ou en glycogène). Le ralentissement du métabolisme observé n'est alors qu'apparent : ce métabolisme devient en effet la résultante de deux métabolismes fonctionnant en sens inverse : l'un de dégradation et l'autre de synthèse. Le « cycle » de Meyerhof peut ainsi se représenter par le schéma :



D'après Lipmann, au contraire, qui montre que le mécanisme glycolytique d'extraits de muscles [38] ou de levures [39] est bloqué par l'oxygène, à la condition que l'on introduise dans le milieu un système oxydo-réducteur, le ralentissement du métabolisme aérobie correspond à une inhibition vraie de la fermentation qui serait due à l'oxydation et par conséquent à la mise hors service de certains constituants des systèmes fermentaires de la cellule ; la respiration apparaît alors comme la manifestation de l'oxydation soit du glucose lui-même, soit de ses produits immédiats de transformation, selon le schéma ci-dessous :



Pour ce qui est de savoir sur quelle relation intermédiaire de dégradation du glucose se greffent les processus de respiration, il existe actuellement deux manières de voir. On peut supposer en premier lieu avec Kluver et Oppenheimer que la substitution de la respiration à la fermentation a lieu au moment de l'apparition des corps en C_3 (acides pyruvique et lactique par exemple) intermédiaires entre le glucose et les produits finaux (acides propionique et acétique) de la fermentation, et dont l'oxydation constitue la respiration cellulaire observée.

Selon Oppenheimer [46], le glucose subirait ainsi, et d'une façon tout à fait générale, une suite de dégradations anaérobies communes, en aérobose, à la fermentation et à la partie

principale de la respiration, avant de livrer les substances aptes à être oxydées.

C'est la théorie « unitaire », soutenue notamment par Kluyver [30] et que l'on peut représenter de la façon suivante :

anaérobiose : glucose $\longrightarrow$ produits intermédiaires $\longrightarrow$ produits finaux de la fermentation.

aérobiose : glucose $\xrightarrow{\text{O}_2}$ mêmes produits intermédiaires $\longrightarrow$ $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

D'autre part, on peut penser que la partie principale des oxydations porte soit sur le glucose lui-même, soit sur des corps qui en dérivent immédiatement, comme par exemple ses produits de phosphorylation ; qu'il suffise de rappeler, à ce point de vue, l'oxydation de l'acide glucose-6-phosphorique (ester de Robinson), oxydation dans laquelle entrent en jeu la codéhydrase II et le ferment jaune, comme l'ont mis en évidence Warburg, Christian et Griesse [70] dans un travail classique, et que Dickens [11] a montré pouvoir se poursuivre jusqu'au dernier stade de l'oxydation, à savoir CO_2 et H_2O . Cette manière de voir a été encore plus récemment soutenue par Barker, Shorr et Malam [1], qui, opérant sur des tissus animaux, ont apporté de sérieux arguments en faveur de l'indépendance fonctionnelle des métabolismes anaérobie et aérobie. Dans ce cas, l'on pourrait représenter les choses ainsi :

anaérobiose : glucose $\longrightarrow$ produits intermédiaires $\longrightarrow$ produits finaux de la fermentation.

aérobiose : glucose $\longrightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

Si l'on tient compte du schéma précédent, le fait que les fluorures et surtout l'acide monoiodacétique, utilisés dans des conditions convenables, bloquent complètement toute fermentation sans agir sensiblement sur la respiration (Chap. III) permet de conclure que chez *Prop. pentosaceum*, les oxydations qui constituent la respiration cellulaire observée portent essentiellement soit sur le glucose lui-même, soit sur ses produits immédiats de phosphorylation : elles ne portent normalement ni sur l'acide pyruvique, ni sur l'acide lactique prenant transitoirement naissance, ni d'une façon générale sur aucun produit intermédiaire du métabolisme anaérobie apparaissant

après le triosephosphate. La théorie unitaire telle qu'elle a été brièvement exposée plus haut, ne s'applique donc pas ici.

Nous pouvons d'ailleurs déduire de nos expériences bien d'autres indications relatives aux rapports existant entre respiration et fermentation chez *Prop. pentosaceum*. Si nous tenons compte du fait que H_2S , à des concentrations très faibles (10^{-4} à 10^{-6} M) inhibe l'Effet Pasteur chez cet organisme*, si nous tenons compte d'autre part de l'aptitude de H_2S à se combiner au métal lourd entrant dans la constitution de nombreux ferments et si enfin nous rapprochons ces données des résultats antérieurement acquis en expérimentant avec des suspensions bactériennes diluées et d'après lesquelles le mécanisme enzymatique provoquant la glycolyse est reversiblement oxydable dans ces cellules mais rendu inactif par oxydation, nous sommes amenés à schématiser la connexion des voies de dégradations anaérobie et aérobie du glucose chez *Prop. pentosaceum* de la façon suivante :

1° le système fermentaire auquel est due la réaction globale glucose $\longrightarrow$ acide lactique est susceptible d'être inhibé par oxydation ;

2° la cystéine et H_2S protègent ce système fermentaire contre cette oxydation ;

3° l'oxydation du système fermentaire se fait par un mécanisme différent de celui qui constitue la respiration cellulaire proprement dite.

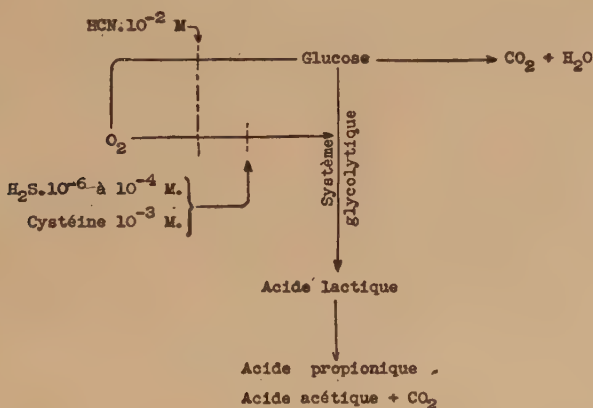
Dans le schéma ci-dessous, les flèches horizontales et verticales correspondent respectivement aux métabolismes aérobie et anaérobie.

Ajoutons que la légère augmentation de la respiration observée en présence de H_2S peut être vraisemblablement mise sur le compte de l'oxydation d'une fraction de l'acide lactique

* Remarquons à ce propos que le système hémine capable de catalyser l'oxydation de certaines substances organiques au même titre que les enzymes respiratoires est, d'après les observations de Krebs [33], tantôt inhibé, tantôt non inhibé par H_2S , suivant la nature du substrat d'oxydation : c'est ainsi que l'oxydation de la cystéine en présence d'hémine est insensible à H_2S , alors que l'oxydation de l'acide linoléique en présence d'hémine est à peu près complètement inhibé par H_2S 10^{-4} M.

dont il se forme alors transitoirement une plus grande quantité, et que l'activation de la fermentation anaérobie par la cystéine semble montrer que le système fermentaire ne se trouve pas normalement en totalité sous forme réduite active, même en anaérobiose.

Sans pouvoir dire avec certitude sur quel point précis du mécanisme fermentaire s'exerce l'action inhibitrice de l'oxygène, il apparaît probable, d'après l'effet inhibiteur de l'acide monoiodacétique que nous avons observé dans la fermentation du glucose par *Prop. pentosaceum*, que cette action se porte sur le système fermentaire intervenant dans la transformation du triosephosphate en acide phosphopyruvique (p. 39).



Enfin, en ce qui concerne la nature du système capable de catalyser l'oxydation du système fermentaire, sa sensibilité à H_2S semble indiquer qu'il s'agit d'un système métallique.

L'Effet Pasteur se ramène ainsi à l'inhibition par l'oxygène d'un système fermentaire cellulaire. En général, une telle inhibition par l'oxygène paraît liée à la mise en jeu du mécanisme respiratoire, mais cette liaison, comme le montre le présent travail, n'est qu'apparente. Il est possible, en effet, chez les bactéries propioniques de mettre en évidence parmi leurs différents systèmes d'oxydation, deux d'entre eux, dont l'un est responsable de l'inhibition du système fermentaire anaéro-

bie et l'autre est responsable de la respiration cellulaire. C'est l'indépendance de ces deux mécanismes d'oxydation qui distingue les bactéries propioniques d'une série d'autres organismes dont le système respiratoire proprement dit est inhibé par H_2S de la même façon que le système capable d'oxyder le système fermentaire anaérobie, et chez lesquels, par conséquent, n'a pu être observée jusqu'ici, après addition d' H_2S , qu'une diminution de la respiration parallèle à une augmentation de la fermentation en aérobiose.

RESUME

Le présent travail consiste en une étude cinétique du métabolisme anaérobie et aérobie de *Prop. pentosaceum* en masses non proliférantes, en présence de glucose, d'acide lactique ou d'acide pyruvique, à la température de 29° et à pH = 6,4. Les principaux résultats de cette étude sont les suivants :

I. — L'intensité du métabolisme normal en présence des différents substrats s'exprime par les valeurs du tableau ci-dessous :

Substrat.	Tampon	$Q_{\text{CO}_2}^{\text{CO}_2}$ ou $Q_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}$	Q_{O_2}	$Q_{\text{O}_2}^{\text{CO}_2}$
Glucose	Bicarbonate Phosphates	25	16	22
		8	29	26
Ac. lactique	Bicarbonate Phosphates	7,5	77	45
		9	133	34
Ac. pyruvique	Bicarbonate Phosphates	16	15	25
		10	22	26

Ces chiffres permettent de calculer les quantités de substrat métabolisé en aérobiose et en anaérobiose :

Substrat	Tampon	Anaérobiose	Aérobiose	
		F	R	f
Glucose	Bicarbonate Phosphates	80	22	20
		123	39	0
Ac. lactique.	Bicarbonate Phosphates	90	103	0
		113	730	0
Ac. pyruvique	Bicarbonate Phosphates	97	23	77
		59	35	47

Il apparaît ainsi que d'une part *Prop. pentosaceum* manifeste un métabolisme aérobie notable et que, d'autre part, en présence de glucose, ce métabolisme aérobie est accompagné d'un Effet Pasteur bien caractérisé.

II. — Le fluorure de sodium (0,02 M) inhibe le métabolisme anaérobie du glucose et celui de l'acide lactique ; en revanche, il est pratiquement sans effet sur le métabolisme anaérobie de l'acide pyruvique, ainsi que sur le métabolisme aérobie des trois substrats considérés. Ces résultats, joints à ceux obtenus par d'autres auteurs, relatifs à l'existence des réactions de phosphorylation chez les bactéries propioniques, permettent de conclure à la validité du schéma de Meyerhof pour la partie de la fermentation propionique comprise entre glucose et acide lactique. Ils font également connaître une nouvelle réaction sensible à l'action du fluorure :



Ces résultats ne permettent pas de dire si la respiration porte directement sur le glucose ou sur un autre corps provenant de la dégradation anaérobie du glucose, mais ils indiquent que cette respiration s'exerce en tout cas sur une substance qui, dans la suite des réactions entre le glucose et les produits ultimes de la fermentation, est située avant l'acide phosphopyruvique.

III. — La fermentation du glucose est complètement abolie par l'acide monoiodacétique 4.10^{-4} M ; le métabolisme aérobie du glucose, de même que celui de l'acide lactique, est pratiquement insensible à la présence du dérivé halogéné ; ceci permet de préciser les données précédentes et de conclure que la respiration s'exerce sur une substance qui, dans la suite des réactions entre le glucose et les produits ultimes de la fermentation, est située avant l'acide triosephosphorique.

IV. — La respiration en présence du glucose, de l'acide lactique et de l'acide pyruvique, n'est inhibée ni par la cystéine, ni par H_2S ; cette respiration est au contraire accrue en pré-

sence de ces dérivés sulfurés. Dans les mêmes conditions, la fermentation aérobie est considérablement augmentée, ce qui a pour conséquence d'abolir l'Effet Pasteur. En anaérobiose, la cystéine augmente légèrement l'intensité de la fermentation du glucose, H_2S paraissant sans influence. Le métabolisme aérobie ou anaérobie des acides lactique et pyruvique est indifférent à la cystéine et à H_2S .

V. — La respiration en présence de glucose, comme celle en présence d'acide lactique, apparaît comme relativement peu sensible à la présence de HCN . D'autre part, dans les conditions expérimentales réalisées, la respiration du glucose est insensible à CO , alors que celle de l'acide lactique est inhibée de 50 % environ dans un mélange de 95 % CO + 5 % O_2 , cette inhibition n'étant ici nullement amoindrie par la lumière.

VI. — La présence de catalase chez *Prop. pentosaceum* est nettement démontrée ; de plus, des observations spectroscopiques mettent en évidence dans le même organisme l'existence du cytochrome.

VII. — La discussion de l'ensemble des résultats précédents aboutit, entre autres choses, à envisager que l'Effet Pasteur se ramène à l'inhibition par l'oxygène, du système fermentaire auquel est due la glycolyse ; chez les bactéries propioniques, le système d'oxydation responsable de cette inhibition du système fermentaire anaérobie est différent de celui qui est responsable de la respiration cellulaire générale.

BIBLIOGRAPHIE

1. S. B. BARKER, E. SHORR et M. MALAM. — *J. Biol. Chem.* **129**; 33; 1939.
2. E. BUMM et H. APPEL. — *Zs. f. physiol. Chem.* **210**, 79; 1932.
3. L. CALIFANO. — *Arch. f. Mikrobiol.* **8**, 307; 1937.
4. P. CHAIX et C. FROMAGEOT. — *Enzymol.* **1**, 321 et **3**, 288; 1937.
5. — *Enzymol.* **6**, 33 (et plus spécialement 42), 1938.
6. P. DESNUELLE. — *Enzymol.* **6**, 242 et 387; 1939.
7. P. DESNUELLE, E. WOOKEY et C. FROMAGEOT. — *Enzymol.* **8** (sous presse).
8. F. DICKENS. — *Nature*, **131**, 130; 1933.
9. — *Nature*, **135**, 762; 1935.
10. — *Biochem. Jl.* **30**, 1233; 1936.
11. — *Biochem. Jl.* **32**, 1626; 1938.
12. K. C. DIXON. — *Biological Reviews*; **12**, 431; 1937.
13. E. C. DOODS et G. D. GREVILLE. — *Lancet*, **1**, 398; 1934.
14. R. EMERSON. — *Jl. gen. Physiol.* **10**, 469; 1927.
15. S. ENDO. — *Biochem. Zs.* **296**, 56; 1938.
16. C. ERB, H. G. WOOD et C. H. WERKMAN. — *J. Bact.* **31**, 595; 1936.
17. A. FITZ — *Ber. Chem. Ges.* **11**, 1890; 1878.
18. M. FOOTE, E. B. FRED et W. H. PETERSON. — *Zentr. Bakt.* (II), **82**, 379; 1930.
19. C. FROMAGEOT et G. BOST. — *Enzymol.* **2**, 225; 1938.
20. C. FROMAGEOT et P. DESNUELLE. — *Enzymol.* **6**, 80; 1939.
21. C. FROMAGEOT et P. LAROUX. — *Bul. Soc. Chim. Biol.* **18**, 797, 812; 1936.
22. C. FROMAGEOT et E. PIRET. — *Archiv. f. Mikrobiol.* **7**, 551; 1936.
23. C. FROMAGEOT et R. SAFAVI. — *Enzymol.* **6**, 57; 1939.
24. C. FROMAGEOT et E. L. TATUM. — *Biochem. Zs.* **267**, 360; 1933.
25. C. FROMAGEOT, E. WOOKEY et P. CHAIX. — *C. R. Ac. Sc.* **209**, 1019; 1939.
26. L. GENEVOIS. — *Biochem. Zs.* **191**, 147; 1927.
27. E. R. HITCHNER. — *Thèse*, Madison 1922.
28. J. C. HOOGERHEIDE. — *Bijdrage tot de kennis van de reactie van Pasteur. Thèse*, Delft 1935.
29. W. KIESSLING. — *Ber.* **68**, 243; 1935.
30. A. J. KLUYVER. — *Arch. f. Mikrobiol.* **1**, 181; 1930.

31. A. J. KLUYVER et H. J. L. DONKER. — *Proc. Kon. Akad. Wet.* **28**, 297; 1925.
32. E. KRAH. — *Biochem. Zs.* **219**, 432, 1930.
33. H. A. KREBS. — *Biochem. Zs.* **209**, 32; 1929.
34. — *Biochem. Jl.* **31**, 661; 1937.
35. H. A. KREBS et W. A. JOHNSON. — *Biochem. Jl.* **31**, 645; 1937.
36. H. LASER. — *Nature*, **136**, 184; 1935.
37. H. LINEWEAVER. — *Jl. of Biol. Chem.* **99**, 575; 1932.
38. F. LIPMANN. — *Biochem. Zs.* **265**, 133; 1933.
39. — *Biochem. Zs.* **268**, 205; 1934.
40. E. LUNDGAARD. — *Biochem. Zs.* **217**, 162 et **220**, 1; 1930. **250**, 61; 1932.
41. O. MEYERHOF. — *Biochem. Zs.* **162**, 42; 1925.
42. O. MEYERHOF et W. KIESSLING. — *Biochem. Zs.* **276**, 239; 1935.
43. O. MEYERHOF, P. OHLMEYER et W. MOHLE. — *Biochem. Zs.* **297**, 90; 1938.
44. E. NEGELEIN. — *Biochem. Zs.* **165**, 203; 1925.
45. C. B. VAN NIEL. — *The propionic acid bacteria*, J. W. Boissevain et Cie, Haarlem, 1928.
46. C. OPPENHEIMER. — *Die Fermente und ihre Wirkungen*, Supp. **2**, 1450; 1938.
47. C. OPPENHEIMER et K. G. STERN. — *Biological oxidation*, p. 5; Dr. W. Junk, Den Haag; 1939.
48. A. S. PHELPS, M. J. JOHNSON et W. H. PETERSON. — *Biochem. Jl.* **33**, 1606; 1939.
49. J. H. QUASTEL et A. H. M. WHEATLEY. — *Biochem. Jl.* **26**, 2169; 1932.
50. L. RAPKINE. — *C. R. Soc. Biol.* **112**, 790 et 1294; 1933.
51. — *J. Chim. phys.* **33**, 493; 1936.
52. — *C. R. Soc. Biol.* **130**, 1516 et **131**, 24; 1939.
53. — *Biochem. Jl.* **32**, 1729; 1938.
54. A. RIPPEL. — *Vorlesungen über theoret. Mikrobiol.*, p. 130, Berlin 1927.
55. J. RUNNSTRÖM, A. RUNNSTRÖM et E. SPERBER. — *Naturw.* **33**, 540; 1937.
56. S. SAKUMA. — *Biochem. Zs.* **142**, 68; 1923.
57. A. SCHWARTZ et A. OSCHMANN. — *C. R. Soc. Biol.* **92**, 169, 1925.
58. J. M. SHERMAN. — *J. Bact.* **11**, 417; 1926.
59. R. W. STONE, C. ERB et C. H. WERKMAN. — *Proc. Soc. Exp. Biol.* **33**, 483; 1936.
60. R. W. STONE, C. H. WERKMAN. — *Iowa St. Coll. J. Sci.* **10**, 341; 1936.
61. — *Iowa St. Coll. J. Sci.* **11**, 1; 1937.
62. — *Biochem. Jl.* **31**, 1516; 1937.
63. E. L. TATUM, H. G. WOOD et W. H. PETERSON. — *Biochem. Jl.* **30**, 1898; 1936.

64. — *J. Bact.* **32**, 167, 1936.
65. A. I. VIRTANEN. — *Soc. Scient. Fennica*, **2**, 20; 1925.
66. O. WARBURG. — *Biochem. Zs.* **172**, 432; 1926.
67. — *Biochem. Zs.* **177**, 471; 1926.
68. — *Biochem. Zs.* **189**, 354; 1927.
69. — *Biochem. Zs.* **231**, 493; 1931.
70. O. WARBURG, W. CHRISTIAN et A. GRIESE. — *Biochem. Zs.* **282**, 157; 1935.
71. H. WEIL-MALHERBE. — *J. Soc. Chem. Ind.* **54**, 1115; 1935.
72. C. H. WERKMAN et S. E. KENDALL. — *Iowa St. Col. Jl. Sci.* **6**, 17; 1931.
73. C. H. WERKMAN, R. W. STONE et H. G. WOOD. — *Enzymol.* **4**, 24; 1937.
74. W. P. WIGGERT et C. H. WERKMAN. — *Biochem. Jl.* **33**, 1061; 1939.
75. H. G. WOOD, A. A. ANDERSEN et C. H. WERKMAN. — *J. Bact.* **36**, 201; 1938.
76. H. G. WOOD, R. W. STONE et C. H. WERKMAN. — *Biochem. Jl.* **31**, 349; 1937.
77. H. G. WOOD, E. L. TATUM et W. H. PETERSON. — *J. Bact.* **33**, 227; 1937.
78. H. G. WOOD et C. H. WERKMAN. — *Proc. Soc. Exp. Biol.* **31**, 938; 1934.
79. — *Biochem. Jl.* **28**, 745, 1934.
80. H. G. WOOD, W. P. WIGGERT et C. H. WERKMAN. — *Enzymol.* **2**, 373; 1938.
81. R. WURMSER. — *Bul. Soc. Chim. Biol.* **5**, 506; 1923.

DEUXIÈME THESE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Ferments d'adaptation chez les microorganismes.

Utilisation des isotopes en biologie
et particulièrement des radioéléments de synthèse

Lu et accepté :

LES MEMBRES DU JURY,

CARDOT.

THIBAUD.

FROMAGEOT.

Vu et approuvé :

LE DOYEN DE LA FACULTÉ
DES SCIENCES DE LYON,

Pour le Doyen, l'Assesseur :

CARLOT.

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 24 janvier 1940.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ.

A. LIRONDELLE.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	1
INTRODUCTION	5
CHAPITRE PREMIER	11
A. — PRINCIPE DE LA MÉTHODE GÉNÉRALE SUIVIE AU COURS DU PRÉSENT TRAVAIL	11
B. — TECHNIQUES GÉNÉRALES	12
C. — MÉTHODES ET CONDITIONS DES MESURES	13
CHAPITRE II. — RESPIRATION ET FERMENTATION NOR- MALES CHEZ PROP. PENTOSACEUM EN PRESENCE DE DIFFÉRENTES SUBSTANCES.	19
A. — MÉTABOLISME DU GLUCOSE.	20
B. — MÉTABOLISME DE L'ACIDE LACTIQUE	24
C. — MÉTABOLISME DE L'ACIDE PYRUVIQUE	28
D. — REMARQUES	29
CHAPITRE III. — INFLUENCE DU FLUORURE DE SODIUM ET DE L'ACIDE MONIODACÉTIQUE SUR LE MÉTABO- LISME DE PROP. PENTOSACEUM	31
A. — INFLUENCE DU FLUORURE DE SODIUM SUR LA DÉGRADA- TION ANAÉROBIE DU GLUCOSE, DE L'ACIDE LACTIQUE ET DE L'ACIDE PYRUVIQUE	31
B. — INFLUENCE DE L'ACIDE MONIODACÉTIQUE ET DE L'ACIDE MALONIQUE SUR LA DÉGRADATION ANAÉROBIE DU GLUCOSE.	36
C. — INFLUENCE DU FLUORURE DE SODIUM SUR LE MÉTABOLISME AÉROBIE DE PROP. PENTOSACEUM	40
D. — INFLUENCE DE L'ACIDE MONIODACÉTIQUE SUR LE MÉTABO- LISME AÉROBIE DE PROP. PENTOSACEUM	40
CHAPITRE IV. — ACTION DU GROUPE — SH SUR LE MÉ- TABOLISME DE PROP. PENTOSACEUM	47
A. — ACTION DU GROUPE — SH SUR LE MÉTABOLISME DU GLU- COSE. — SUPPRESSION DE L'EFFET PASTEUR.	48
1° Influence de la cystine « traitée »	48
2° Influence de la cystéine	50
3° Influence de H ₂ S	55
4° Influence de la cystine « traitée », de la cystéine et de H ₂ S sur le métabolisme de Prop. Zeae	58

B. — INFLUENCE DE H_2S SUR LE MÉTABOLISME DE L'ACIDE LACTIQUE ET DE L'ACIDE PYRUVIQUE	60
C. — DISCUSSION DES RÉSULTATS	60
APPENDICE. — ESSAIS D'INACTIVATION PAR LAVAGES, DE PROP. PENTOSACEUM ET DE PROP. ZEAE.....	68
CHAPITRE V. — ACTION DE L'ACIDE CYANHYDRIQUE ET DE L'OXYDE DE CARBONE SUR LA RESPIRATION DE PROP. PENTOSACEUM	71
A. — INFLUENCE DU CYANURE DE POTASSIUM SUR LA RESPIRATION DE PROP. PENTOSACEUM EN PRÉSENCE DE GLUCOSE, D'ACIDE LACTIQUE ET D'ACIDE PYRUVIQUE	72
B. — INFLUENCE DE L'OXYDE DE CARBONE SUR LA RESPIRATION DE PROP. PENTOSACEUM EN PRÉSENCE DE GLUCOSE OU D'ACIDE LACTIQUE.	75
CHAPITRE VI. — DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS.	85
A. — MÉTABOLISME ANAÉROBIE	85
B. — MÉTABOLISME AÉROBIE	85
C. — L'EFFET PASTEUR : MÉCANISME, INHIBITION	89
RESUME	95
BIBLIOGRAPHIE	99

